Aus der Urologischen Klinik und Poliklinik
der Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. E. Schmiedt

Thermische Zerstörung von experimentellen Harnblasentumoren durch CO_2- und Neodym-Yag-Laser-Bestrahlung

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

HERMANN EBNER
aus Viechtach

München 1981

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545801_0030

Aus der Urologischen Klinik und Poliklinik der
Maximilians-Universität München

Direktor: Prof.Dr.E. Schmiedt

THERMISCHE ZERSTÖRUNG VON EXPERIMENTELLEN HARNBLASENTUMOREN DURCH CO_2- UND NEODYM-YAG-LASER-BESTRAHLUNG

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Hermann Ebner
aus
Viechtach

München 1981

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.G. Staehler

Mitberichterstatter: Prof.Dr.E. Schmiedt

Dekan: Prof.Dr.W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 3. 12. 1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

L E B E N S L A U F

Hermann EBNER, geb. 17. April 1949, in Schlatzendorf bei Viechtach als erstes Kind der Eltern Alois und Emma Ebner, geb. Englmeier.

1955 - 1960	Besuch der Knabenvolksschule in Viechtach
1960 (Sept.)	Übertritt in das Humanistische Gynmasium in Straubing
1964 (Sept.)	Übertritt in das Anton-Bruckner-Gymnasium und dort
1970 (Mai)	Abitur
1970 (Juni)	Einberufung zur Bundeswehr
1972	Entlassung als Leutnant
1973 (Mai)	Beginn des Medizinstudiums an der Ludwig-Maximilians-Universität München
1975 (April)	Physikum
1976 (April)	1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
1977	Übertritt in die Technische Universität, Klinikum rechts der Isar
1978 (April)	2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
1979 (Mai)	Approbation als Arzt
1979 (Juli)	Assistenzarzt an der II.Med.Klinik des Elisabeth-krankenhauses Straubing bei Herrn Prof.Dr.med. Hilpert
1981 (Sept.)	Assistenzarzt an der II. Chirurg.Klinik des Elisabeth-Krankenhauses Straubing bei Herrn Chefarzt Dr.med. Everke

Inhaltsverzeichnis Seite

EINLEITUNG - 1 -

FRAGESTELLUNG - 2 -

1. Morphologische und histologische Veränderungen an der Harnblasenschleimhaut nach CO_2-Laserbestrahlung - 3 -

2. Vermessung von CO_2-Läsionen; Perforationsrisiko - 3 -

3. CO_2- und Neodym-YAG-Laserbestrahlung von Harnblasentumoren der Ratte - 3 -

MATERIAL UND METHODE

1. Lasergeräte - 4 -
   a) Der CO_2-Laser Sharplan 791 - 4 -
   b) Der Neodym-YAG-Lser - 6 -

2. Bestrahlung der gesunden Kaninchenharnblase mit dem CO_2-Laser - 7 -
   a) Kratertiefenmessung - 7 -
   b) Überlebensversuche zum Studium der Spätperforation und der Abheilung - 12 -
   c) Untersuchung über die Mitschädigung benachbarter Organe und der Ureterostien - 13 -

3a) Harnblasentumormodell bei der Ratte - chemisch induzierte Tumoren - 14 -
b) Tansplantierte Brown-Pearce-Carcinome beim Kaninchen - 14 -

5. Temperaturmeßmethode bei Tumorbestrahlung - 16 -

ERGEBNISSE

	Seite
I. Bestrahlung der gesunden Kaninchenharnblase mit dem CO_2-Laser;	- 19 -
1. Messung und Beurteilung von Läsions-Stellen (Krater)	- 19 -
a) rasterartige Applikation scharf fokussierter Brennflecke	- 19 -
b) Brennflecke von 3-4 mm teilweise überlappend; nicht fokussiert	- 22 -
c) Histologie zu a. und b.	- 26 -
d) Beurteilung der Eindringtiefen bei ansteigender Bestrahlungsintensität	- 29 -
2. Abheilung der Schleimhautdefekte	- 31 -
a) Abheilung der Läsionen nach CO_2-Laserbestrahlung bei verschiedenen Überlebenszeiten	- 31 -
b) Bestrahlung der Ureterostien mit dem CO_2-Laser	- 33 -
3. Auswirkung der Laserstrahlen auf den direkt anliegenden Darm	- 34 -
4. Abheilung der CO_2-Läsionen im Vergleich zur Elektrokoagulation	- 36 -
5. Zusammenfassung: CO_2-Laser	- 37 -
II. Zerstörung chemisch induzierter u. transplantierter Harnblasentumoren bei gleichzeitiger Temperaturmessung	- 38 -
1. Tumoren	
a) Histologische Beurteilung chemisch induzierter Harnblasentumoren der Ratte	- 38 -
b) Morphologie	- 38 -
c) Morphologie des transplantierten Brown-Pearce-Carcinoms	- 41 -

2. Zerstörung der Tumoren mit CO_2-Laser — Seite
a) Tumoren der Rattenharnblase nach CO_2-Laserbestrahlung - 42 -
b) Morphologie - 43 -
3. Zerstörung der Tumoren mit Neodym-YAG-Laser - 49 -
a) Harnblasentumor der Ratte nach Neodym-YAG-Laserbestrahlung - 49 -
b) Beurteilung der Tumoroberfläche während der Neodym-YAG-Laserbestrahlung - 50 -
4. Graphische Darstellung der Temperatur-Zeit-Beziehung - 52 -
5. Beziehung Pulszahl - Tumorgröße - 55 -
6. Integration der Meßdaten in ein Rechenmodell - Kalkulation der Gewebebeschädigung - 58 -

DISKUSSION
1. Thermische Effekte an biologischem Gewebe - 60 -
a) CO_2-Laser - Verdampfung - Abtragung - 60 -
b) Neodym-YAG-Laser - Wärmeleitung - Koagulationswirkung - 67 -
2. Wundheilung nach CO_2- und Neodym-YAG-Laserbestrahlung - 66 -
3. Tiefenwirkung - Perforationsrisiko - 66 -
4. Wirkung auf Blut- und Lymphgefäße - 67 -
5. Fehlerquellen der Temperaturmeßmethode - 68 -
6. Vergleich verschiedener Tumormodelle - 69 -
7. Vergleich Neodym-YAG-Laser - CO_2-Laser im Hinblick auf klinische Anwendung - 70 -

ZUSAMMENFASSUNG - 72 -

LITERATURVERZEICHNIS - 74 -

EINLEITUNG

Das Wort Laser ist ein Akronym und kann sinngemäß mit Lichtverstärkung durch induzierte Emission von Strahlung übersetzt werden.

WOLBARSHT (52), GOLDMAN (10) und andere (15) erforschten die thermische Wechselwirkung des Laserlichtes auf biologisches Gewebe.

Die medizinische Anwendung war wegen des Fehlens geeigneter Transmissionssysteme stark eingeschränkt. Ein entscheidender Durchbruch gelang erst nach der Entwicklung geeigneter flexibler Lichtleiter für verschiedene Lasertypen, wie den Argon- oder den Neodym-YAG-Laser (38). Die Lichtleiter eröffnen verschiedene endoskopische Anwendungsmöglichkeiten wie z.B. die Stillung gastrointestinaler Blutungen (25) oder die Anwendung in Rektum und Trachea (46,33).

Abgesehen von diesen endoskopischen Applikationsarten hat der Laser ein festes Anwendungsgebiet in der Ophthalmologie zur Netzhautkoagulation gefunden (49).

Einige chirurgische Zentren setzen den Laser als Schneidinstrument ein, z.B. zur Abtragung von Verbrennungsnekrosen (53) oder bei plastischen Operationen.

Angeregt durch die ersten Publikationen von MÜßIGGANG (36,37) wurden systematische Untersuchungen der Laserwirkung in der Urologie an parenchymatösen Organen von der Gießener Arbeitsgruppe um BREITWIESER und NÖSKE (4) durchgeführt.

In der vorliegenden Arbeit wird die Wirkungsweise des Neodym-YAG- und des CO_2-Lasers bei der Zerstörung von Harnblasentumoren untersucht.

Die Untersuchungen wurden aus dem Forschungsvorhaben "Laser in Medizin und Biologie" des Bundesministeriums für Forschung und Technologie finanziert und in den Räumen der GSF Neuherberg durchgeführt.

FRAGESTELLUNG

Im Vordergrund bei den tierexperimentellen Untersuchungen stand im ersten Teil der Arbeit die prinzipielle Frage nach der Brauchbarkeit des CO_2-Lasers zur Zerstörung von Blasentumoren.

Es sollte insbesonders festgestellt werden, ob die Anwendung des CO_2-Lasers zur Bestrahlung der Harnblase eine Alternative zum konventionellen Verfahren der transurethralen Resektion von Blasentumoren darstellt.

Anknüpfend an frühere Untersuchungen in der Arbeitsgruppe "Laser in Medizin und Biologie" sollten die Experimente zur Beantwortung der Frage beitragen, welcher der drei derzeit in der Medizin für klinische Zwecke zur Verfügung stehenden Laser (Neodym-YAG, Argon, CO_2) zur Zerstörung von Blasentumoren am besten geeignet ist.

Nachdem sich im Verlauf der Untersuchung sehr rasch zeigte, dass der CO_2-Laser keine Alternative zur transurethralen Resektion darstellt, hingegen der Neodym-YAG-Laser eine tiefe und zur Tumorzerstörung ausreichende Nekrotisierung des Gewebes

herbeiführen kann, sollte in einem zweiten Fragenkomplex geklärt werden, bis zu welcher Größe Tumoren durch Neodym-YAG-Laserbestrahlung restlos zerstört werden können.

Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Fragenkomplexe wurden in drei Hauptgruppen unterteilt:

1. Morphologische und histologische Veränderungen der Harnblasenschleimhaut nach CO_2-Laserbestrahlung

   In Überlebensversuchen wurden die Folgen der CO_2-Laserstrahleneinwirkung auf die gesunde Harnblasenwand, die Harnleiterostien und die anliegende Darmwand untersucht.

2. Vermessung von CO_2-Läsionen; Perforationsrisiko

   Bei jeder Manipulation in einem Hohlorgan mit mechanischen, elektrothermischen, kryochirurgischen (44) oder lichtthermischen Instrumenten stellt die Perforationsgefahr eine wesentliche Komplikationsmöglichkeit dar.

   Von besonderem Interesse war die Frage nach dem Eindringvermögen der Strahlen, der Nekrosetiefe, dem gewebsabtragenden Effekt und dem damit verbundenen Perforationsrisiko.

3. CO_2- und Neodym-YAG-Laserbestrahlung von Harnblasentumoren der Ratte

   Die Eignung des CO_2- und Neodym-YAG-Lasers zur Zerstörung von Harnblasentumoren (26, 19, 30, 43) soll auf folgende Fragen hin geprüft werden.

a) bis zu welcher Größe können Tumoren zerstört werden?

b) wie werden Absorption und Eindringtiefe der Laserstrahlen (9) durch die Beschaffenheit eines Tumors (Durchblutung, Nekrose, Blutauflagerung, Größe) beeinflußt?

c) welche Applikationsart (Dauer - oder gepulste, rasterartige oder mehr zeilenförmige Bestrahlung) ist zur Erzielung des gewünschten Effektes am besten geeignet?

d) mit welcher Leistung muß bestrahlt werden, um einen ausreichenden Effekt zu erzielen?

MATERIAL UND METHODE

1. Lasergeräte

a) Der CO_2-Laser: Sharplan 791

Zur Durchführung der Versuche stand ein CO_2-Laser der Firma Laser-Industries (Tel-Aviv, Israel) zur Verfügung (22), ein Gerät, das besonders für den Gebrauch in der Klinik entwickelt wurde (Sharplan 791).

Der CO_2-Laser emittiert unsichtbares Laserlicht mit einer Wellenlänge von 10,6 µ (naher Infrarotbereich). Bedingt durch die relativ langwellige Strahlung wird fast die gesamte Energie an der Oberfläche des Bestrahlungsobjektes absorbiert. Die hohe Energiekonzentration an der Gewebeoberfläche bewirkt über einen Verdampfungseffekt eine Gewebsabtragung. Deshalb findet der CO_2-Laser besonders als Schneidinstrument Verwendung.

Aufgrund der sehr starken Absorption der Strahlung gestaltet sich die Leitung über flexible Lichtleiter als äusserst schwierig. Der Laserstrahl kann bisher nur mit Hilfe von

beweglichen Gelenkarmen, in welche goldbedampfte Spiegel eingebaut sind, zu einem Handstück geleitet werden, das mit Speziallinsen zur Fokussierung des austretenden Strahles ausgestattet ist.

Mit einer kurzbrennweitigen Linse kann bei schärfster Fokussierung ein Brennfleckdurchmesser von 0,12 mm, mit der langbrennweitigen ein Brennfleckdurchmesser von 0,4 mm erzielt werden.

Ein Abstandshalter, der am Handstück angebracht ist, erlaubt die Einhaltung einer konstanten Brennweite und ermöglicht so eine gleichbleibend fokussierte Applikation. Die maximale Ausgangsleistung des Gerätes beträgt ca. 35 Watt.
Ein elektronischer Zeitgeber ermöglicht die Einstellung auf 0,1 Sekunden, 0,05 Sekunden und 0,01 Sekunden Bestrahlungszeit. Da für folgende Versuche längere Zeiten vorgesehen waren, wurde über eine Manualschaltung ein elektronischer Zeitgeber mit entsprechend langen Zeitwahlen eingebaut.
Zur Reinigung des Operationsfeldes wird aus einem Zylinder Nitrogengas zugeführt.
Da beim CO_2-Laser kein Pilotlicht zur Verfügung stand, wurde das CO_2-Handstück an ein Mikroskop gekoppelt. Die Justierung von Laserstrahlen und Achsenkreuz des Okulars ermöglichte nun eine gezielte Bestrahlung.

b) Neodym-YAG-Laser

Die Versuche wurden mit dem Neodym-YAG-Laser "medi Las" der Firma Messerschmitt-Bölkow-Blohm durchgeführt.
Die maximal erreichbare Ausgangsleistung dieses Gerätes beträgt 50 Watt. Die 1.016 nm langen Neodym-Laserlichtwellen sind unsichtbar. Sie dringen wegen ihrer geringen Absorption an der Oberfläche tiefer als das CO_2-Laserlicht in das Gewebe ein. Zur Markierung des Zielpunktes ist ein Pilotlicht erforderlich, das in den Neodym-YAG-Laserstrahl eingekoppelt wird. Bei dem verwendeten Gerät wird hierfür ein Helium-Neon-Gas benützt, das im roten Spektralbereich emittiert.
Neodym-YAG-Laserlicht kann gut über flexible Quarzfasern geführt werden. Bei unseren Versuchen wurde der von NATH (33) entwickelte Lichtleiter verwendet. Dieser besteht aus einer sehr dünnen bikonischen 200-300 µ dicken Glasfaser. Sie wird durch einen mit Emulsionsflüssigkeit gefüllten PVC-Schlauch geschützt. Die Faser wurde direkt am Gerät angekoppelt.
Am Austrittspunkt befindet sich eine Linse, wodurch der Strahl fokussiert werden kann. Ein Schutzgasschlauch sorgt für die Freihaltung der Linse von Rauchpartikeln (38).

Um Augenschäden zu verhindern, muß bei Betrieb des Neodym-YAG-Lasers eine Schutzbrille getragen werden. Im Gegensatz zum CO_2-Laser, bei dem in erster Linie Hornhautschäden zu befürchten sind, können bei dem tiefer eindringenden Neodym-YAG-Laserstrahl irreversible Netzhautschäden hervorgerufen werden.

2. Bestrahlung der gesunden Kaninchenharnblase mit dem CO_2-Laser

a) Kratertiefenmessung

Ziel dieser Versuchsserie war es, durch Bestrahlung der gesunden Kaninchenharnblase herauszufinden, wie der CO_2-Laserstrahl am effektivsten anzuwenden sei, um einerseits eine ausreichende Tiefenwirkung in der Harnblasenschleimhaut zu bewirken und andererseits eine Perforation zu vermeiden.

Folgende Fragen waren im einzelnen zu klären:

1. Wie wirkt sich der Abstand Lichtleiter-Gewebeoberfläche auf den Brennfleckdurchmesser aus?
2. Sind mehrere scharf fokussierte, rasterartig dicht nebeneinandergesetzte Brennflecke (Durchmesser ca. 1 mm) besser zur Abdeckung einer Fläche geeignet, als ausgedehnte Brennflecke (Durchmesser 3-4 mm)?
3. Sollen kurz hintereinanderfolgende Pulse appliziert werden oder ist durch kontinuierliches Bestrahlen ein wirkungsvollerer Einsatz des CO_2-Lasers möglich?

Zur Klärung dieser Fragen wurde folgende Versuchsanordnung gewählt:

Koppelung des Handmanipulators an ein OP-Mikroskop (Zeiß-OPMIC); dadurch war es möglich, den Brennfleck während der Bestrahlung konstant zu halten. Dieses Vorgehen ermöglichte die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse.

Der mit dem Mikroskop gekoppelte Laser wurde so justiert, dass das Achsenkreuz des Okulars genau mit der Läsionsstelle übereinstimmt. Bei optimaler Schärfeneinstellung des Mikroskopes auf eine Korkplatte wurde die gewünschte Brennfleck-

größe durch Bestrahlen der Platte und Messen der Auftreffstelle ermittelt.
Der Brennfleckdurchmesser und damit auch die Leistungsdichte konnten somit exakt auf eine definierte Größe eingestellt und konstant gehalten werden.
Günstig im Sinne der Reproduzierbarkeit wirkt sich eine kurzbrennweitige Linse aus, die gravierende Fehler im Falle von Abstandsveränderungen ausgleicht. Der Winkel zwischen der zu bestrahlenden Fläche und der Achse des austretenden Lichtstrahles wurde mit 90^{o} immer konstant gehalten.

Alle folgenden Tierversuche wurden an männlichen Kaninchen durchgeführt. Durch Applikation von ca. 2 ml Nembutal in eine Ohrvene wurden die Tiere betäubt. Nach Sectio alta-Schnitt wurde die Harnblase herausluxiert,durch Längsinzision eröffnet und anschließend unter Vermeidung einer Traumatisierung auf einen Metallring von 3 cm Durchmesser spannungsfrei fixiert.

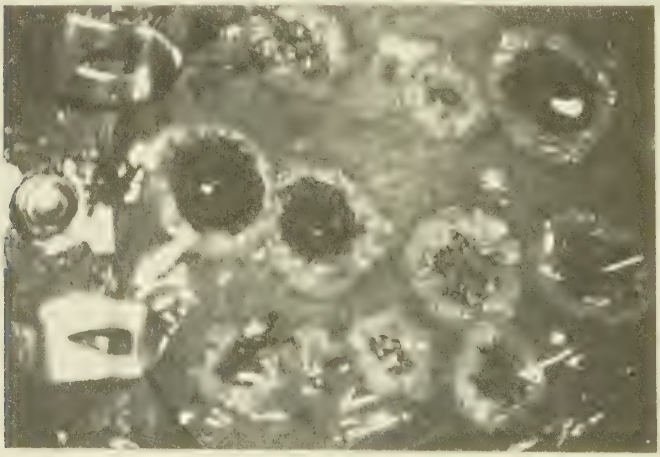

Abb. 1: Kaninchenharnblase auf Metallring fixiert. Läsionsstellen (Krater) nach Bestrahlung mit unterschiedlichen Leistungen von 5-32 Watt. Brennfleck 3 mm, Bestrahlungzeit 2 sec.

Die Bestrahlung der Harnblase erfolgte bei 5 Kaninchen mit steigender Leistung von 5-32 Watt, bei einer gleichbleibenden Bestrahlungszeit von 2 Sekunden und konstantem Brennfleckdurchmesser von 3 mm. Bei weiteren 5 Kaninchen wurde die Bestrahlungszeit von 1 Sekunde bis auf 8 Sekunden gesteigert, während Leistung (20 Watt) und Fokussierung (3 mm Brennfleckdurchmesser) konstant gehalten wurden. Insgesamt wurden 64 einzelne Läsionen gesetzt und vermessen. An einem weiteren Versuchstier erfolgte die Bestrahlung mit einem nicht fokussierten Laserlichtstrahl (Durchmesser der Läsionsstelle ca. 8-10 mm, Bestrahlungsdauer bis zu 10 Sekunden bei 20 Watt.

Eine Kaninchenharnblase wurde bei schärfster Fokussierung des Laserstrahles (Durchmesser der Läsionsstelle ca. 1 mm) und 20 Watt Leistung 2 Sekunden lang bestrahlt. Zur Messung der Kratertiefen wurde an einer Mikrometerschraube (Noniusskala) eine 200 µ dicke Drahtglassonde angebracht. Unter Beobachtung mit dem Operationsmikroskop konnte das Auftreffen der Sonde auf das Gewebe genau festgestellt werden.

Als weitere Möglichkeit der Tiefenmessung wurde ein Abdruckverfahren angewendet. Dabei wurden die Läsionsstellen mit Paraffin ausgegossen und im Anschluß die entstandenen Abdrücke vermessen. Diese Methode wurde jedoch wieder verlassen, da sie sich als umständlich und ungenau erwies.

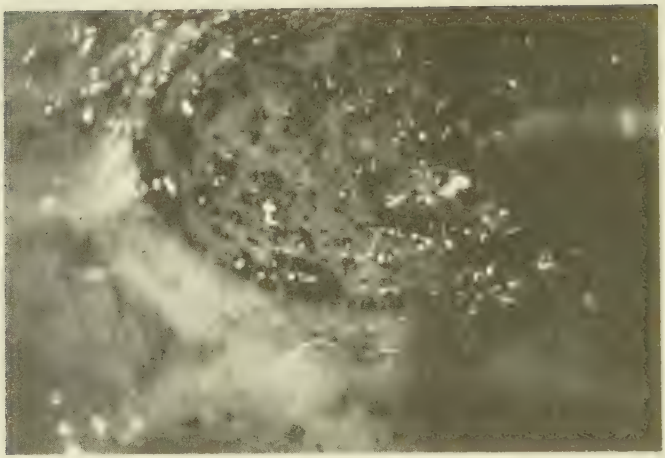

Abb. 2: Meßsonde an der tiefsten Stelle eines Kraters

Zur Bestimmung des Urothelniveaus wurde jeweils an 4 verschiedenen Stellen des Kraterrandes gemessen und der Mittelwert errechnet. Die Messung der tiefsten Stelle des Kratergrundes mit Hilfe von Mikroskop und Sonde zusammen ergab aus der Differenz der gemessenen Abstände Aufschluß über die Tiefe der Läsion.

Der Kraterdurchmesser konnte ebenso wie der angrenzende Nekrosesaum durch Ablesen einer Skala im Okular des Mikroskopes ermittelt werden.

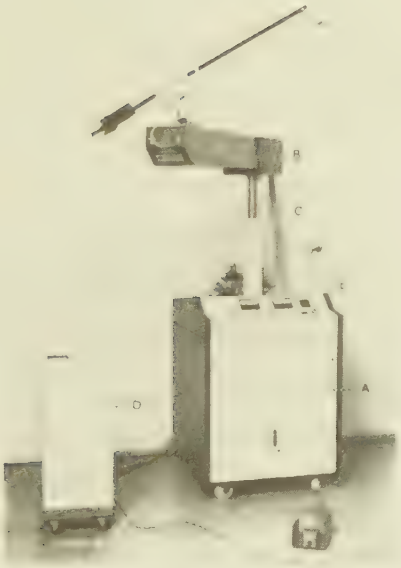

Abb. 3: CO_2-Laser Sharplan 791

A: Versorgungsteil mit Vacuumpumpe, Stromversorgung und Kontrollarmaturen.

B: Lasergehäuse

C: über Teil C gelangt Kühlwasser, Gas und Strom zum eigentlichen Lasergehäuse

D: das Gehäuse beinhaltet die Messeinrichtung zur Kontrolle der abgegebenen Strahlungsleistung.

E: beweglicher Lichtleiter
In den Gelenken befinden sich jeweils goldbedampfte Spiegel, die den Laserstrahl bis zum Handmanipulator weiterleiten.

b) Überlebensversuche zum Studium der Spätperforation und der Abheilung.

Anknüpfend an frühere Untersuchungen mit dem Neodym-YAG-Laser mussten zur Erfassung möglicher Spätkomplikationen und der Abheilungsdauer Überlebensversuche unter sterilen Operationsbedingungen durchgeführt werden.

Die durch Längsinzision nach Sectio alta eröffneten Harnblasen wurden mit einer fortlaufenden Naht und resorbierbarem Nahtmaterial genäht. Muskulatur und Bauchhautnähte wurden mit nicht resorbierbarem Material durchgeführt.

Unter Vermeidung einer Perforation wurde ein 1 cm^2 großer Gewebeabschnitt bestrahlt. Wie aus Abb. 8 ersichtlich, wurden jeweils 4 Läsionen dicht nebeneinander gesetzt und ein weiterer Laserpuls auf das am Kreuzungspunkt der 4 Läsionsstellen unversehrt stehengebliebene Gewebe plaziert. Der Brennfleckdurchmesser bei dieser Versuchsserie betrug jeweils 2-4 mm. Die Ausgangsleistung wurde in 3 Gruppen variiert:

- 16 Watt bei 3 Sek.
- 24 Watt bei 3 Sek.
- 32 Watt bei 3 Sek.

Nach zwei, vier, sechs und acht Wochen wurden bei insgesamt 12 Tieren die bestrahlten Harnblasenbezirke makroskopisch und histologisch untersucht. Nach Fixierung der Präparate wurde eine HE-Färbung vorgenommen.

Zum Vergleich der Abheilungsvorgänge nach Elektrokoagulation wurde an zwei Kaninchenharnblasen mit dem Elektrokauter ein ähnlicher Defekt wie mit dem CO_2-Laser gesetzt.
Nach makroskopischer Beurteilung und Markierung der Läsionsstellen mit einem nicht resorbierbarem blauen Faden, wurden diese 2 Wochen später erneut makroskopisch untersucht. Anschließend gab eine histologische Aufarbeitung, in gleicher Weise wie im vorhergehenden Absatz beschrieben, Aufschluß über eine unterschiedliche Tiefenwirkung.

c) Untersuchung über die Mitschädigung benachbarter Organe

Um Aussagen über die Mitschädigung benachbarter Organe, besonders des Darms machen zu können, wurde bei insgesamt 10 Kaninchen ein Darmabschnitt von ungefähr 5 mm Länge an der Aussenwand der aufgeschnittenen Harnblase fixiert.
Die Fixierung erfolgte genau auf der Rückseite der vorher bestimmten und mit einem feinen Faden markierten Bestrahlungsstelle. Brennflecke von 3 mm Durchmesser wurden dann, wie unter 2 b beschrieben, dicht nebeneinander auf die markierte Stelle plaziert, wobei Leistungen zwischen 20 und 28 Watt zur Anwendung kamen. Somit wurde bei den Tieren auf eine Fläche von $1cm^2$ eine Leistung von ca. 5 x 50 Joule appliziert.
Unmittelbar nach Bestrahlung untersuchten wir die entsprechenden Stellen auf der Aussenseite der Harnblase. Dabei wurde besonders auf eine Veränderung der Oberfläche (Perforation, Verfärbung, Karbonisation, Gewebsschrumpfung) geachtet. Des weiteren unterzogen wir die Darmwandaussenseite einer eingehenden makroskopischen und mikroskopischen Betrachtung. Bei

nichtgeschädigter Darmaussenseite und Harnblasenaussenseite wurde auf eine histologische Untersuchung verzichtet. Zwei Kaninchen verstarben, nachdem es nach fokussierter Bestrahlung mit 28 Watt 2 Sekunden bei einem Brennfleckdurchmesser von 1 mm zu einer Perforation gekommen war, an den Folgen einer Peritonitis.

3 a) Harnblasentumormodell bei der Ratte - chemisch induzierter Tumor

Zur Erzeugung chemisch induzierter Harnblasentumoren wurden nach KUNZE und SCHAUER (26) 50 weiblichen Wistar-Ratten wöchentlich jeweils 35 mg Butyl-Butanol-Nitrosamin in 250 ml Trinkwasser verfüttert. Da die genannte karzinogene Substanz dazu neigen soll, bei starker Lichtexposition durch chemische Umwandlung ihre Wirksamkeit zu verlieren, wurden die Trinkflaschen mit Alufolie umwickelt, um so die Wirkung des Lichtes zu verhindern. Die Konzentration des Karzinogens von 20 ml pro kg Körpergewicht pro Tag wurde ca. 5 Monate beibehalten, bis bei einigen Ratten eine Hämaturie auftrat. Dann reduzierten wir diese Dosis auf 10 mg/kg Körpergewicht pro Tag. Nach DRUCKREY et al. (8) gelten Hämaturie, Veränderungen am Fell, Inappetenz und ungewöhnliches Verhalten als Kriterium für das Vorliegen von fortgeschrittenen Blasentumoren bei Ratten. Eine Probelaparotomie bei zwei Tieren ergab nach 170 Tagen Veränderungen (hirsekerngroße, papillomähnliche Gebilde) an der Innenwand der Harnblase.

3 b) Transplantierte Brown-Pearce-Carcinome beim Kaninchen

Bei 20 Kaninchen wurde das aus einem Spendertier entnommene Tumormaterial (Brown-Pearce-Carcinom Lit. 5) in der nach

HOFSTETTER und STAEHLER (19) beschriebenen Methode aufgearbeitet und in die Harnblasenwand implantiert. Das Tumorwachstum bei den Empfängertieren wurde cystoskopisch mit einem Babyzystoskop (11 Charr.) kontrolliert. Die Eröffnung der Kaninchen-Harnblasen zur Bestrahlung erfolgte 12-15 Tage nach Implantation.

1. Bestrahlung von Harnblasentumoren der Ratte mit CO_2- und Neodym-YAG-Laser

Die durch medianen Unterbauchschnitt oberhalb der Symphyse (Sectio alta) freigelegte Harnblase (in gefülltem Zustand bei der Ratte erbs- bis kirschgroß) wurde auf unterlegten, feuchten, sterilen Kompressen unter leichtem Zug mit Klemmen fixiert. Die Markierung der bestrahlten Tumorstelle erfolgte mit drei nicht resorbierbaren Fäden, wobei an verschiedenen Stellen rund um die Läsion Markierungsknoten gesetzt wurden. Zur Zerstörung der Tumoren kamen die im Labor vorhandenen Laser, ein Neodym-YAG-Gerät der Firma MBB mit einer Höchstleistung von 40 Watt und der schon beschriebene CO_2-Laser Sharplan 791 mit einer Höchstleistung von 30 Watt zum Einsatz. Bei Beobachtung der Gewebsveränderung auf der Tumoroberfläche und gleichzeitig auch der Schleimhautoberfläche wurde so lange bestrahlt, bis an der Aussenwand der eröffneten Harnblase eine Temperatur von mindestens 60° erreicht war. Wenn möglich, sollten durch diese Überhitzung des Tumorgewebes lediglich Tumorzellen zerstört werden ohne jedoch den Zusammenhalt des Gewebes aufzulösen bzw. ohne dabei Material abzutragen. Da die Größe der Rattenharnblase nur höchstens 0,8 - 1 cm im Durchmesser beträgt, musste unter dem Operationsmikroskop bestrahlt und genäht werden.

Erfahrungsgemäß (47) grenzt sich nekrotisches Gewebe von gesunden Bezirken mikroskopisch erst nach einer gewissen Latenzzeit von 3-4 Tagen ab. Deshalb waren wir bestrebt, grundsätzlich nach jedem Bestrahlungsversuch ein Überleben der Ratten über diesen Zeitraum hinaus zu erreichen.

5. Temperaturmeßmethode bei Tumorbestrahlung

Die Temperaturmessung an der Harnblasenaussenseite erfolgte nach der Methode von NOWAK et al. (40). Die erforderlichen Thermosonden wurden in Zusammenarbeit mit den Physikern Mc. CORD, WEINBERG und GORISCH (30,31) hergestellt. Ein 20 µ dicker Kupferdraht wurde in eine 0,5 mm starke Glaskapillare eingeschmolzen und mit einem dünnen Lackfilm überzogen um Selbstabsorption und Beschädigung so gering wie möglich zu halten. Die sogenannte Selbstabsorption der Sonde kommt durch das direkte Eindringen der Strahlung bis unmittelbar zum Temperaturmessfühler zustande. Der dadurch entstehende Temperaturspike auf einem Temperaturmeßgerät entspricht jedoch nicht der eigentlichen, allmählich durch Wärmeleitung stattfindenden Aufheizung des Gewebes. Diese langsame Aufheizung jedoch ist im Zusammenhang mit der Zerstörung von Tumorgewebe von entscheidender Bedeutung. Die so konstruierte Sonde wies an ihrem vordersten Ende eine Empfindlichkeit von 41 µV/1° C auf. Vor jeder Versuchsserie wurde die Sonde auf eine Genauigkeit von 1° C geeicht. Ein automatischer Schreiben (W+W-Recorder Series 300) mit einer Verzögerung von 0,3 Sek/1° C zeichnete den Temperaturanstieg nach jedem Laserpuls in einer Kurve auf (siehe Abb. 29). Die Sonde kam, von Hand gehalten, genau unter das Zentrum der zu bestrahlenden Stelle zu liegen, die zugleich auch der dicksten Stelle des Tumors entsprach.

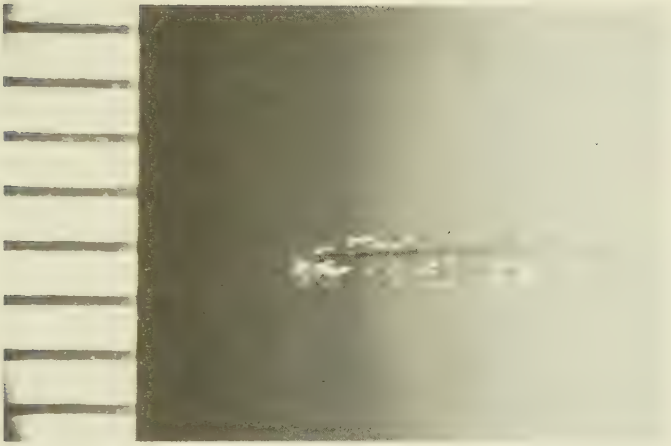

Abb. 4: Temperaturmeßsonde (in Glas eingeschmolzener Kupferdraht, Milimeterskala links) nach WEINBERG und Mc CORD (31)

Abb. 5: Temperaturmeßsonde links, Laserlichtleiter (Neodym-YAG) rechts.

Mit einer Reihe von 1 Sek. langen Laserpulsen (Pausen von 1-3 Sek.) wurde das Gewebe aufgheizt, bis die Temperaturmessung ungefähr 61,5° C ergab. Diese Temperaturen erschienen aufgrund verschiedener Literaturangaben (21) geeignet, eine Zerstörung von Tumorgewebe herbeizuführen.

Die Dicke der Tumoren (mit einer sterilen Schubleere gemessen) wurde bei sehr großen Tumoren mit dem Skalpell auf 6-8 mm reduziert. Bestrahlt wurde jeweils nur ein geeigneter Tumor pro Harnblase. Bei sämtlichen applizierten Laserpulsen wurde ein Brennfleckdurchmesser von 6-8 mm bei einer Leistung von 20 Watt

eingehalten.

Ergebnisse

I. Bestrahlung der gesunden Kaninchenharnblase mit dem CO_2-Laser

Eine Gewebefläche kann durch eine einzige Läsion mit einem relativ großen Brennfleck oder durch viele kleine Läsionen abgedeckt werden. Welche der beiden Möglichkeiten zur Bestrahlung der Harnblase geeigneter ist, wurde durch makroskopische Untersuchungen der Läsionsstellen und durch histologische Studien untersucht.

1. Messung und Beurteilung von Läsionsstellen (Krater)

a) kasterartige Applikation scharf fokussierter Brennflecke

Bei scharf fokussierten Brennflecken ist eine wesentlich stärker ausgeprägte Tiefenwirkung als bei nicht fokussierter Bestrahlung zu sehen. Brennflecke von 1-2 mm Durchmesser, bei 20 Watt Leistung und einer Bestrahlungszeit von 2 Sek. lassen eine Gewebsnekrose bis in eine Tiefe von 2-3 mm erkennen. Im folgenden Bild (Abb. 6) kommen bei ungefähr 40facher Vergrößerung Gewebsläsionen zur Ansicht, die rasterartig gesetzt wurden. Die zwischen einzelnen Läsionsstellen unversehrt stehengebliebenen Gewebsreste sind bezüglich der sicheren Zerstörung eines Gewebsbezirkes nicht erwünscht. Bei Bestrahlung eines Tumors wäre die sichere Zerstörung damit nicht gewährleistet. Auch bei sorgfältiger Führung des Handmanipulators sind die "Stege" zwischen den einzelnen Kratern nicht zu vermeiden ohne eine Nachbestrahlung des gleichen Punktes durchzuführen.

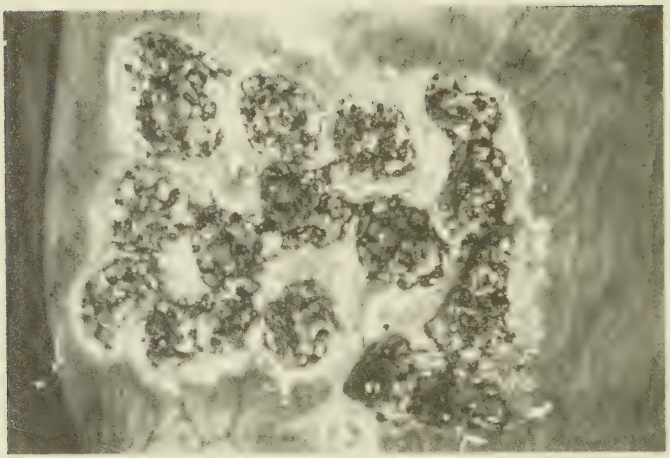

Abb. 6: Zustand nach rasterartiger Bestrahlung der gesunden Kaninchenharnblase (Brennfleckdurchmesser 1-2 mm, Leistung 20 Watt) mit dem CO_2-Laser. Die kraterartigen Gewebsdefekte sind mit schwarzem Karbonisationsmaterial unregelmäßig bedeckt, die Läsionen selbst mit einem weißlichen ödematösen Randsaum umgeben.

Die Tiefenwirkung bei scharfer Fokussierung ist beim CO_2-Laser ähnlich schwer vorherzusagen wie beim Neodym-YAG- und Argon-Laser. In der Abb. 7 ist eine glatte Perforation der Harnblasenwand erkennbar. Sie kam zustande, als mit 30 Watt bei einem Brennfleckdurchmesser von 1,5 - 2 mm bestrahlt wurde. Eine vorher bei gleicher Wattleistung durchgeführte Bestrahlung, jedoch mit einem um das zweifache größeren Brennfleck verursachte lediglich eine unge-

fähr 1 mm tiefe Läsionsstelle. In der Mitte der Perforationsstelle befindet sich die Spitze der Meßsonde, welche (hier nicht im Bild) mit einer Mikrometerschraube verbunden ist. Durch Zurückdrehen der Sonde auf das Oberflächenniveau und Ablesen an der Noniusskala der Mikrometerschraube konnte die jeweilige Kratertiefe ermittelt werden.

Abb. 7: Verstärkung der Tiefenwirkung mit Perforation der Blasenwand (Dicke: 3 mm) nach Fokussierung des Brennfleckes von 4 mm Durchmesser auf 1,5 mm unter Beibehaltung der gleichen Ausgangsleistung von 30 Watt. In Bildmitte die Sonde für die Dickenmessung.

Bei Bestrahlung mit dem CO_2-Laser kommt es in erster Linie zu einer Gewebsabtragung durch Verdampfung. Die Folge ist eine schwer kontrollierbare Tiefenwirkung, da im Augenblick der Applikation des CO_2-Laserstrahles die Einschätzung der Schichttiefe sehr schwierig ist. Bei der geringen Dicke der Kaninchenharnblasenwand erwies sich der fokussierte CO_2-Laserstrahl als sehr gefährlich. In einigen Fällen konnte trotz sorgfältiger Applikation des fokussierten Strahles eine Perforation nicht vermieden werden. Dagegen eignet sich der fokussierte CO_2-Laserstrahl besonders gut zum Schneiden von parenchymatösem Gewebe, da bei scharfer Fokussierung nur ein eng begrenzter Nekrosesaum an den Schnitträndern entsteht, der eine exakte Begrenzung der Schnittfurche ermöglicht.

b) Brennflecke von 3-4 mm; teilweise überlappend; nicht fokussiert.

Als Alternative zur Abdeckung eines Gewebebezirkes mit mehreren nadelstichartigen Gewebsläsionen bietet sich die Bestrahlung mit wenigen großen Brennflecken (Durchmesser 4 mm) an. Dabei werden allerdings, um einen ausreichenden Tiefeneffekt zu erzielen, relativ hohe Ausgangsleistungen (mindestens 30 Watt) notwendig. Mit dieser Methode ist eine gleichmäßige Wirkung auf das zu bestrahlende Areal zu erreichen.

Abb. 8: Großflächig überlappende Brennflecke von 4 mm Durchmesser.

Links im Bild ist eine nahezu quadratische Läsion mit einer Kantenlänge von 1 cm bestehend aus 5 Läsionen erkennbar. Die Läsion auf der rechten Bildseite ist ein verlasertes Harnleiterostium. Bei sämtlichen Bestrahlungsversuchen an den Harnleiterostien kam es weder direkt nach, noch im postoperativen Verlauf zu einem Verschluß. In chronologischer Reihenfolge sieht man nach dem Auftreffen des defokussierten Strahles auf das Gewebe eine Abblassung der Oberfläche, die einer Koagulationsnekrose entspricht. Dazu tritt eine Schrumpfung des betroffenen Gewebebezirkes ein (siehe Abb. 9).

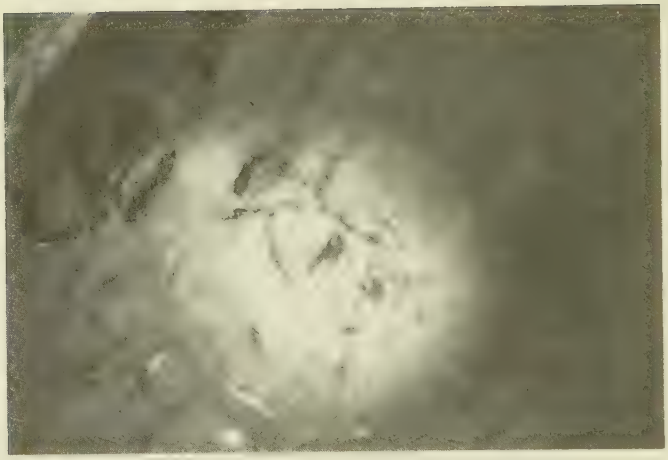

Abb. 9: Abblassung und Schrumpfung der Gewebeoberfläche (Brennfleckdurchmesser = 4 mm; 6 Watt; 2 Sek.)

Daraufhin platzt das Urothelgewebe an der Oberfläche auf, wobei kleine Gewebsteilchen im aufsteigenden Dampf mit hochgerissen werden. So entsteht eine Vertiefung in Form eines Kraters, da die Strahlenintensität nach der Gauß'schen Verteilung zum Randbereich der Läsionsstelle hin abnimmt.

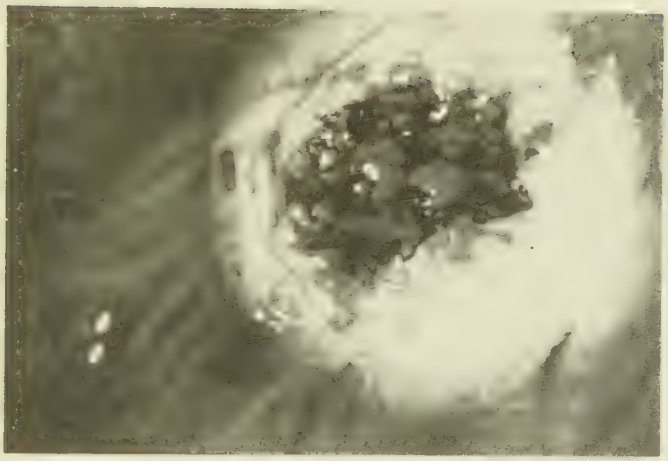

Abb. 10: Läsionsstelle mit breitem Nekrosesaum und schmalem, zentralem Krater (8 Watt, Brennfleckdurchmesser 4 mm, Bestrahlungszeit 6 Sek. kontinuierlich)

Der nekrotische Randsaum ist nach längerer Bestrahlungszeit (z.B. 4 Sek. bei kontinuierlicher oder gepulster Bestrahlung) breiter als bei kurzer Bestrahlung mit hoher Energiedichte. Durch die lange Einwirkzeit kommt es entsprechend dem Wärmeleitungskoeffizienten des Gewebes zu einer langsamen Aufheizung der Umgebung.

c) Histologie zu a. und b.

Tiefe kraterförmige Gewebsdefekte sind typisch für abtragende Laser wie CO_2- oder Argon-Laser. Besonders bei weniger wasserreichem Gewebe fällt jeweils eine ausgeprägte oberflächliche Karbonisierung auf. Von der Oberfläche ausgehend nach unten zu schließt sich jeweils eine Koagulationsnekrose an, mit Verdampfungslücken und verzerrten kollagenen Faserstrukturen. Wie bei jeder Verbrennungswunde entsteht auch hier unter der verbrannten Oberfläche ein interstitielles Ödem. Unmittelbar angrenzend sind in Abb. 11 die erhaltenen glatten Muskelfasern erkennbar. Auffallend sind die am Übergang zum unveränderten Gewebe sehr weit gestellten Blutgefäße, die eine reaktive, vermehrte Durchblutung dieses Gewebsbezirks anzeigen.

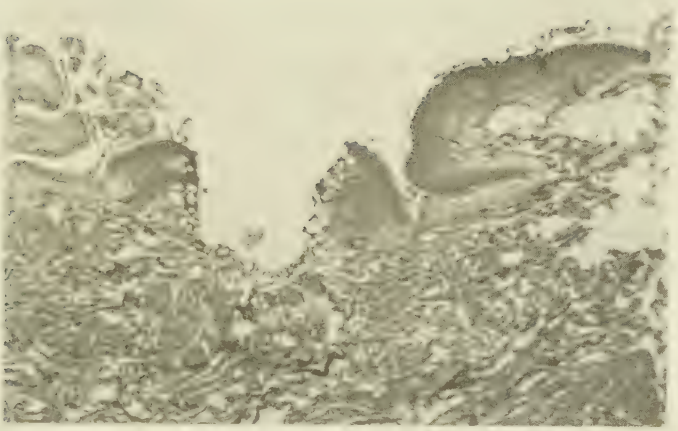

Abb. 11: Urothel nach Bestrahlung mit fokussiertem CO_2-Laserstrahl (10 Watt, 2 Sek., Brennfleck ca. 1 mm², Originalvergrößerung achtfach).
In der Mitte des Bildes ist der für abtragende Laser typische tiefe kraterförmige Gewebsdefekt erkennbar.

zu b.: nach nicht fokussierter Bestrahlung.

Die oberflächliche Absorption des CO_2-Laserstrahles verhindert ein tiefes Eindringen. Im nicht fokussierten Zustand tritt der Verdampfungseffekt nur bei hoher Ausgangsleistung des Gerätes auf. Daher kommt es, wie in Abb. 12 erkennbar, zu einer nur oberflächlichen bandförmigen Koagulationsnekrose mit Abhebung des schollig zerfallenen Übergangsepithels mit

verzerrtem Kern und Zytoplasmastrukturen.
Dazwischen befindet sich karbonisiertes Material. Die glatten Muskelfasern der angrenzenden Wandschichten zeigen sich unverändert. Unterhalb der Nekrose sind sehr weit gestellte prall mit Erythrozyten gefüllte Gefäße, die wiederum die reaktive Mehrdurchblutung anzeigen, zu erkennen.

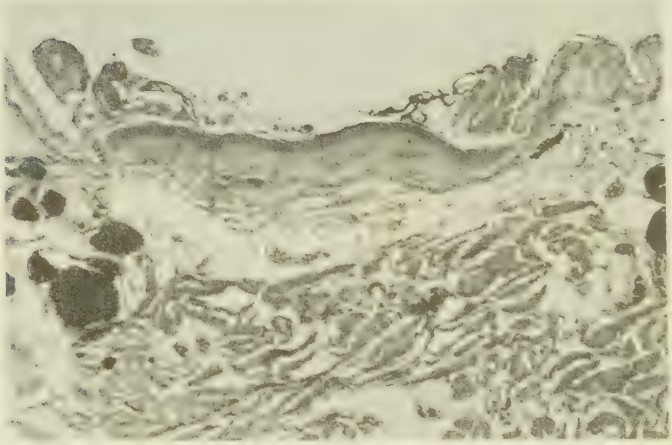

Abb. 12: Oberflächlich schmale Koagulationsnekrose (Kaninchenharnblase) ohne Abtragung bei defokussierter Bestrahlung (Brennfleck 3-4 mm, 10 Watt, 2 Sek. Originalvergrößerung achtfach)

d) Beurteilung der Einddringtiefen bei ansteigender Bestrahlungsintensität.

In Abb. 13 sind die gemessenen Kratertiefen gegen die ansteigende Laserenergie abgetragen. Die Regressionsgerade zeigt ein lineares Verhältnis von Energieaufwand und der Tiefe der n = 60 Läsionen, die durch einen nicht fokussierten Strahl (Brennfleck = 4 mm) bewirkt wurden. Der Schnittpunkt mit der X-Achse läßt ein verzögertes Einsetzen der Tiefen-und Abtragewirkung erkennen. Die Streuung der Werte über und unter der Geraden dürfte auf Messungenauigkeiten zurückzuführen sein. Sie zeigen besonders in den unteren Energiebereichen wie schwer die Tiefenwirkung abzuschätzen ist. In Richtung energiereicherer Bestrahlung wurde die Streuung der Werte geringer. Bei einer Tiefe von ca. 2 mm liegen sie bis auf einen Streuwert dicht beieinander. Die zu erwartende Perforation ereignete sich bei einer Energiedichte von 1 024 Joule/cm^2 (32 Watt, 4 Sek. Bestrahlungzeit, Brennfleckdurchmesser 4 mm).
Der Versuch mit einem völlig defokussierten CO_2-Laserstrahl (Brennfleckdurchmesser 8-10 mm) einen 1 cm großen umschriebenen Bezirk in einem einzigen Bestrahlungpuls abzudecken, scheiterte an der geringen Laserausgangsleistung von nur 36 Watt. Wegen der geringen Energiedichte bei einem 1 cm großen Brennfleck beobachteten wir lediglich eine oberflächige Wirkung auf das Gewebe. Nach längerer kontinuierlicher Bestrahlung wurde abgebrochen, da wegen der an der Oberfläche eingetretenen Karbonisierung des Gewebes eine weiter andauernde Bestrahlung keine Wirkung erkennen ließ.

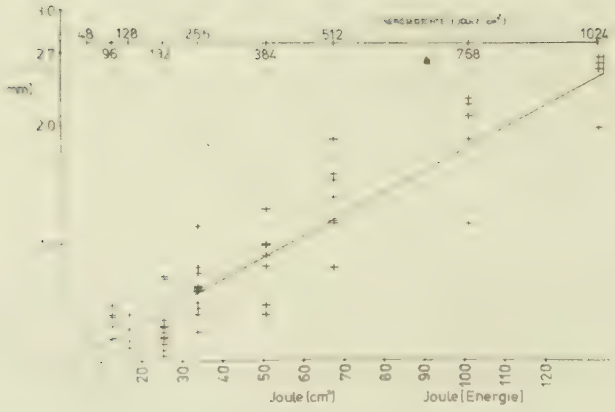

Abb. 13: Kratertiefen (mm) nach CO_2-Laserläsionen mit Meßsonde gemessen, gegen ansteigende Bestrahlungsintensität (Joule und Joule cm^2 = Energiedichte) aufgetragen.
Regressionsgerade aus n = 60 Läsionen

Nach einer bei schärfster Fokussierung (ca. 1 mm) durchgeführten Bestrahlung mit (2 Sek., 36 Watt) kam es zur sofortigen Perforation der 3 mm dicken Harnblasenwand.

2. Abheilung der Schleimhautdefekte

Grundsätzlich stehen zur Kontrolle der Blasenschleimhautabheilung beim Kaninchen (belg.Riese männl. 5-6 kg Gewicht) zwei Möglichkeiten zur Verfügung:

Zystoskopische Beobachtung in kurzen Zeitabständen mit einem Babyzystoskop (11 Charr.)
Tötung der Versuchstiere in verschiedenen Zeitabständen nach der Bestrahlung mit nachfolgender makroskopischer histologischer Begutachtung.

Zu Möglichkeit 1):
Mit dieser Methode können zwar Versuchstiere eingespart werden. Wie sich aber herausstellte, ist der Informationsgehalt einer zystoskopischen Begutachtung wegen der begrenzten Sichtverhältnisse und der fehlenden histologischen Kontrollmöglichkeiten eingeschränkt.

Zu Möglichkeit 2):
Da bei dieser Methode auch beliebig viel Material zur histologischen Untersuchung gewonnen werden konnte, erwies sie sich als wesentlich vorteilhafter. Die histologischen Präparate wurden auch mit solchen nach Elektrokoagulation verglichen (siehe Ergebnisse 4).

a. Abheilung der Blasenschleimhautdefekte nach CO_2-Laserbestrahlung bei verschiedenen Überlebenszeiten.
Nach den bisherigen Erfahrungen hatte es sich bewährt, den CO_2-Laserstrahl in nicht fokussiertem Zustand anzuwenden. Zur Abdeckung eines etwa 1 cm^2 großen Bezirkes waren 4-5 Läsionen notwendig. Um Aufschluß über die Abheilung der Gewebsdefekte nach CO_2-Laserbestrahlung zu erhalten, wurden die Tiere postoperativ nach verschiedenen Zeiträumen kontrolliert. Auch der in unmittelbarer Nachbarschaft zur Harnblase liegende Darm wurde regelmäßig kontrolliert.

In der folgenden Tabelle werden 12 Versuchstiere in 3 Gruppen eingeteilt.

In der Gruppe 1 wurden vier Tiere mit 16 Watt Leistung bestrahlt, wobei wie oben erwähnt jeweils 4-5 Läsionen von 3-4 mm Brennfleckdurchmesser dicht nebeneinander plaziert wurden.

Bezüglich der weiteren Gruppen siehe Tab.

	Anzahl der Tiere	Leistung (W)	Zeit (sec)	Brennfleck (mm)	Perforation
Gruppe 1	4	16	3	3-4	-------
Gruppe 2	4	24	3	3-4	-------
Gruppe 3	4	32	3	3-4	2*

(* Tod nach 2 Tagen postoperativ)

Kontrollergebnisse nach 14 Tagen:

Gruppe 1: völlige Abheilung der oberflächlichen Verbrennungsnekrose bei allen vier Versuchstieren.

Gruppe 2/3: Zystoskopisch zeigen sich bei einigen Tieren noch Fibrinauflagerungen auf den Läsionsstellen.

Kontrollergebnis nach 4 Wochen:

Gruppe 2/3: Jetzt auch in diesen Gruppen völlige Abheilung.

Nach CO_2-Laserbestrahlung zeigten sich im Vergleich zu Neodym-YAG-Läsionen mit gleicher Leistung um einige Tage raschere Abheilungszeiten. Dies dürfte wegen der oberflächlichen Absorption des CO_2-Lasers bedingt sein. Nach Neodym-YAG-Laserbestrahlung kommt es bei äquivalenter Dosis zu einer wesentlich ausgeprägteren Tiefenwirkung.

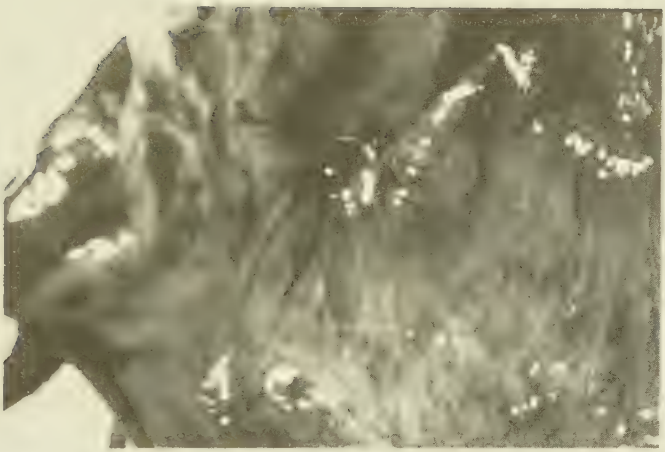

Abb. 14: CO_2-Laser Läsionsstelle von 1 cm^2 Fläche; rechts daneben Harnleiterostium 17 Tage nach Verlaserung Die Schleimhautdefekte sind abgeheilt. Harnleiterostium durchgängig.

b) Bestrahlung der Ureterostien mit dem CO_2-Laser

Im Hinblick auf die praktische Anwendung war es interessant herauszufinden, inwieweit eine Verlaserung der Ureterostien mit dem CO_2-Laser gefährliche Folgen (Stauungsureter, Hydronephrose, Nierenversagen) hat. So wurde zusätzlich in Gruppe 1 (16 Watt, 3 Sek.) und Gruppe 2 (24 Watt, 3 Sek.) jeweils eine Bestrahlung des rechten Ureterostiums durchgeführt. Während und nach der Bestrahlung beobachteten wir dabei völlig normale Miktionen. Aufgrund der fast nur abtragenden Wirkung des CO_2-Lasers war auch kaum ein anderes Ergebnis zu erwarten.

Nach der Tötung der Tiere (2, 4 und 6 Wochen nach Bestrahlung) hat kein einziges Kaninchen einen Stauungsureter oder eine Hydronephrose aufzuweisen. Nicht auszuschließen ist jedoch eine vorübergehende Stauung in der unmittelbar postoperativen Phase, die durch ein reaktives Ödem im Ostiumbereich denkbar wäre.

Eine Bestrahlung mit 24 Watt, 3 Sek. (wie Gruppe 2) auf ein Gewebsareal von ungefährt 1 cm^2 führte in keinem Fall zu einer Perforation. In dieser Gruppe konnte auch eine schnelle und komplikationslose Wundheilung beobachtet werden.

Besonders hervorzuheben ist die bei dieser Bestrahlungstechnik sichtbare gleichmäßige Abtragung des Gewebes (Abb. 8). Unmittelbar nach der Bestrahlung ist versucht worden, die Tiefe der Gewebsabtragung im Hinblick auf eine Tumorzerstörung abzuschätzen. In den meisten Fällen war eine ausreichende Tiefenwirkung erkennbar. Diese Frage war jedoch in weiteren Versuchen zu klären, die im folgenden unter Ergebnisse II . beschrieben sind.

3. Auswirkung der Laserstrahlen auf den direkt anliegenden Darm

Die im Falle der Anwendung des CO_2-Lasers in der menschlichen Harnblase folgenschwerste Nebenwirkung ist die Perforation der Harnblasenwand mit Schädigung des dahinterliegenden Darmes. Zur Untersuchung dieses Risikofaktors wurde wie schon unter Material und Methode Teil 2 c beschrieben, der Darm an die Harnblasenaussenseite fixiert. Durch den engen Kontakt von Harnblasenaussenwand und Darmwand wurden damit Bedingungen

geschaffen, die unter normalen Verhältnissen beim Menschen nicht zu erwarten sind. Abgesehen von der im Vergleich zur Kaninchenharnblase wesentlich dickeren Harnblasenwand kommt es unter natürlichen Bedingungen nicht zu diesem engen Kontakt, ausser es bestünden massive Verwachsungen, wie z.B. bei voroperierten Patienten. Durch diese Versuchsanordnung wurden "harte" Bedingungen geschaffen, um grenzwertige Bestrahlungsleistungen herauszufinden, die eine vollständige Zerstörung eines tumorinfiltrierten Gewebebezirkes bewirken, ohne dass es dabei zu einer Perforation kommt. In beiden Fällen, in welchen die Harnblasenwand perforiert war, zeigte sich auch eine glatte Perforation der Darmwand. Bei den übrigen 8 Tieren war die Darmwand sowohl makroskopisch als auch bei den histologischen Untersuchungen völlig intakt.

Typisch für den CO_2-Laser ist dass im Falle einer Perforation der Harnblasenwand, mit Sicherheit die dahinterliegende Darmwand betroffen ist. 3 Tage postoperativ starben die beiden Kaninchen an den Folgen einer Peritonitis. Im Anschluß an die Perforation der Harnblasenwand war es bei beiden Tieren zu einer Darmfistel gekommen.

Bleibt jedoch eine dünne Gewebsschicht (ungefähr 1 mm) der Harnblasenwand stehen, kommt es zu keiner Schädigung der Darmwand. Beim Neodym-YAG-Laser beobachteten wir in einigen Fällen trotz nicht perforierter Harnblasenwand, Darmschleimhautulcera und Darmwandnekrosen, die allerdings nicht zum Tod der Tiere führten. Wir konnten nicht klären, warum in einigen Fällen nach Neodym-YAG-Laserbestrahlung zwar die Darminnenseite eine Schädigung aufzuweisen hatte, die Außenwand des Darmes jedoch nicht

skopisch intakt war. Nach Neodym-YAG-Bestrahlung wurde im Gegensatz zur CO_2-Laserbestrahlung eine glatte Perforation, die unmittelbar zum Tod der Kaninchen geführt hätte, nicht beobachtet.

4. Abheilung der CO_2-Läsionen im Vergleich zur Elektrokoagulation

Verglichen mit den Gewebsdefekten nach Elektrokoagulation bot sich unmittelbar nach Einwirken der Laserstrahlen bzw. des Stromes ein nahezu gleichartiges Bild. Histologisch sind sich die Schnittbilder sehr ähnlich.

Ebenso wie nach Laserbestrahlung lassen sich hier verschiedene Schädigungszonen in Tiefe und zur Seite hin unterscheiden. Die Elektrokoagulation verursacht keine scharf begrenzte Läsion wie Laserbestrahlung.

Die vollständige Abheilung dauerte bei einem in die Tiefe reichenden CO_2-Laserdefekt (Bestrahlung mit 30 W, 2 Sek) zwei bis drei Wochen. Nach dieser Zeit war die Elektrokoagulationswunde jedoch immer noch gut erkennbar und nicht völlig abgeheilt.

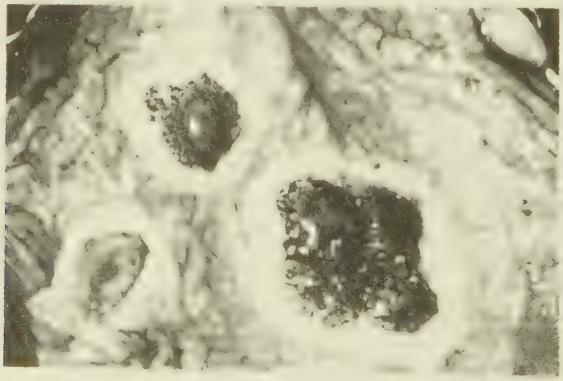

Abb. 15: Elektrokoagulationsdefekt links; rechts u. in Bildmitte (CO_2-Laserläsionen 4 x 30 Watt, 2 sec.)

Im linken Bildrand der Abb. 15 ist eine durch Elektrokoagulation verursachte Läsionsstelle erkennbar.
Im Vergleich zu den beiden anderen Gewebsdefekten (nach CO_2-Laserbestrahlung, Läsionsstelle oben Mitte 30 Watt, 2 Sek., 4 mm Brennfleck und rechts nach 4 nebeneinander plazierten CO_2-Laserbestrahlungspulsen) fällt die fehlende Karbonisierung der Oberfläche auf. Der Nekroserandsaum ist ungefähr gleich breit. Die mehr abtragende Wirkung des CO_2-Laserstrahles kommt deutlich zum Ausdruck.

Zusammenfassend gilt für die Anwendung des CO_2-Lasers:

1. Bei Anwendung hoher Laserleistung (z.B. 32 Watt) erfolgt eine rasche Gewebsabtragung. Während der Bestrahlung der Harnblase ist die Kratertiefe schwer kontrollierbar und das Perforationsrisiko daher sehr hoch.

2. Bei einer sehr niedrigen Ausgangsleistung von z.B. 5 Watt wird eine ausreichende Tiefenwirkung vermißt.
Oberflächlich kommt es zu einer breiten Koagulationsnekrose wodurch eine in die Tiefe gehende Wirkung behindert wird.

3. Das Verhältnis von Nekrosesaum und Kraterbreite ändert sich zu Gunsten der Kraterbreite bei steigender Leistung und kurzer Bestrahlungszeit.

4. Die aufgrund der gewebsabtragenden Eigenschaften hervorragende Eignung des CO_2-Lasers zur Zerstörung von Harnblasentumoren wird durch die Perforationsgefahr entscheidend eingeschränkt.

II. Zerstörung chemisch induzierter und transplantierter Harnblasentumoren bei gleichzeitiger Temperaturmessung

1. Tumoren

a) Histologische Beurteilung chemisch induzierter Harnblasentumoren der Ratte

In den meisten Fällen wurden exophytisch gewachsene Tumoren die etwa 3-4 mm über das Niveau der Harnblasenschleimhaut aufragten, beobachtet. Wie in Abb. 16 sichtbar, hat epitheliales Geschwulstgewebe, das ortsständige Bindegewebe in Form undifferenzierter solider Stränge und großflächig invasiv durchsetzt. Dieses Gewebe erinnert nur noch an einzelnen Stellen an ein Urothelgewebe. Es zeichnet sich durch deutliche Kern- und Zellpolymorphie und zahlreichen Kernteilungsfiguren aus. In der Nachbarschaft des Tumors finden sich Zeichen einer herdförmigen, entzündlichen Reaktion.

b) Morphologie

Das Spektrum der induzierten Carcinome umfasste alle auch beim Menschen vorkommende Typen. In überwiegender Zahl wurden Transitionalzellcarcinome gefunden. Das Verteilungsmuster stimmte mit den von KUNZE und SCHAUER (26) angegebenen Zahlen überein. Auch ERTÜRK und COHEN, sowie DRUCKREY (8) kommen zu ähnlichen Ergebnissen.

Die Wachstumsformen variierten von gerade noch makroskopisch sichtbaren proliferativen Schleimhautveränderungen bis zu gigantischen, den ganzen Bauchraum der Ratten ausfüllenden Tumoren.

Besonders bei den zu einem späteren Zeitpunkt bestrahlten Ratten zeigten sich gehäuft Tumoren bis zu 8 mm Durchmesser, die schon durch die Bauchdecke zu tasten waren. Unter den 6 zuletzt operierten Ratten befanden sich zwei mit Einbruch des Tumors in den Bauchraum. Bei einer Ratte zeigte sich eine ulcerierend wachsende Metastase am Halsübergang.

Sämtliche Tumoren wuchsen exophytisch und bis auf wenige Ausnahmen multipel ohne Bevorzugung einer bestimmten Region der Harnblase. Fünf breitbasig aufsitzende Tumoren füllten das gesamte Lumen. In den meisten Fällen schienen die Geschwülste gegenüber normalem Gewebe mindervaskularisiert. Zehn Tumoren wiesen ein nekrotisches Zentrum auf.

Folgende Tabelle gibt einen Überblick über die Einteilung der Tumoren, wie sie für die Bestrahlungsversuche berücksichtigt wurden.

Höhe und Breite (mm)	1-3	3-5	5-8
Anzahl der Tumoren	9	15	10

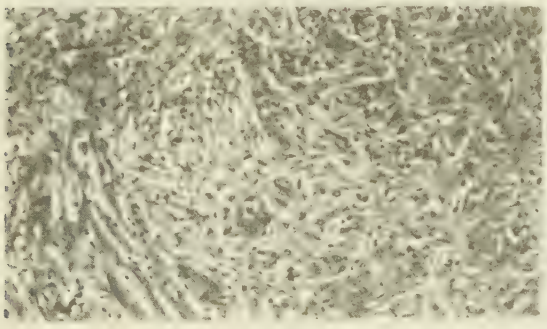

Abb. 1o: Histologische Darstellung des Harnblasentumors der Ratte (chemisch induziert)

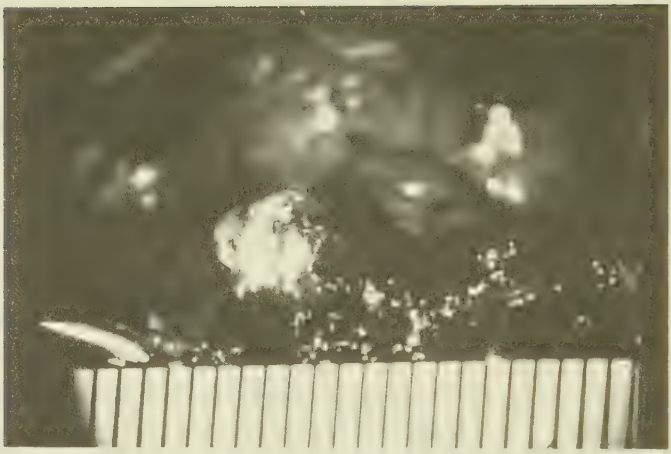

Abb. 17: makroskopische Darstellung eines Harnblasentumor der Ratte (chemisch induziert) Milimeterskala histologisch Transitionalzellcarcinom

Abb. 18: Tumorgefüllte Rattenharnblase geschlossen (6-fach vergrößert)

c) Morphologie des transplantierten Brown-Pearce-Karzinoms

Die feingewebliche Struktur des Brown-Pearce-Karzinoms ist aus der Literatur bekannt. Schon in den Jahren zwischen 1920 und 1930 wurde mit diesem Tumor experimentiert (4). 12 Tage nach Implantation in die Kaninchenharnblasen waren die Tumoren ca. 0,5 cm hoch, noch intramural und nicht ulcerierend (siehe Abb. 19). Nach 3 Wochen zeigten sich ulcerierend, zentral nekrotische, gelblich, derb 1-1,5 cm große solide Tumoren. Bei 80% der Versuchstiere war nach Implantation der Tumorsuspension ein Wachstum zu verzeichnen. Die Tumoren aus der ersten Versuchsserie, bei denen bis zum Bestrahlungszeitpunkt mehr als 3 Wochen gewartet worden war, konnten weder mit dem CO_2- noch mit dem Neodym-YAG-Laser wirksam zerstört werden.
Eine radikale Zerstörung bewirkte zugleich auch eine totale Zerstörung der Kaninchenharnblase. In einer zweiten Serie (n=10 Tiere) warteten wir bis zur Revision der Harnblase und bis zur unmittelbar anschließenden Bestrahlung nur noch 10 Tage. Wie in Abb. 19, 20 sichtbar, konnten diese Tumoren restlos abgetragen werden.

Histologisch wurden 3-4 Tage nach Bestrahlung mit dem Neodym-YAG-Laser keine vitalen Tumorzellen mehr gefunden.

2. Zerstörung der Tumoren mit CO_2-Laser

a) Tumoren der Rattenharnblase nach CO_2-Laserbestrahlung

Nach dreitägiger Überlebenszeit wurden die Ratten getötet und das bestrahlte tumorinfiltrierte Harnblasengewebe entnommen. An der Oberfläche zeigt sich wie in Abb. 19 sichtbar wird eine Koagulationsnekrose mit scholligem karbonisiertem Material. In den Schichten unmittelbar darunter sind die typischen Hitzevakuolen erkennbar, die immer bei thermischer Einwirkung auftreten. Darunter befindet sich eine bandförmige Nekrose mit innerhalb des Nekrosesaumes liegenden verzerrten Tumorsträngen. In der Tiefe ist noch der Hauptteil der Tumormasse erhalten. Es kommt also ein nur teilweise zerstörtes Tumorgewebe zur Ansicht.

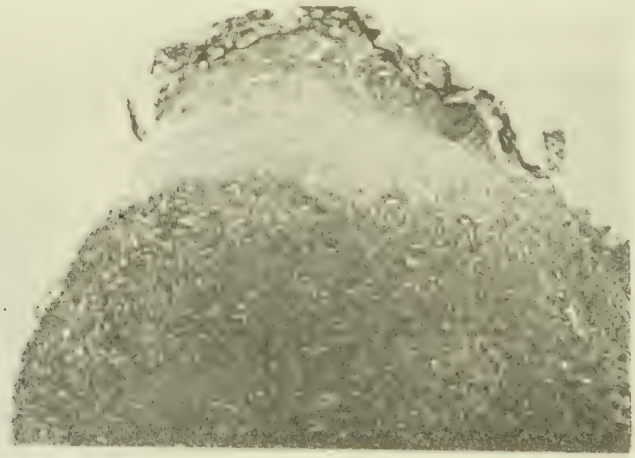

Abb. 19: Gewebe eines Rattenharnblasentumors (3-4 mm Durchmesser) nach Bestrahlung mit dem CO_2-Laser (28 W, 4 sec., 4 mm Brennfleck; HE-Färbung)

b) Morphologie

In sämtlichen Fällen kam es zu einer oberflächlichen Karbonisation. Die Eindringtiefe während des Bestrahlungsvorganges kann aus verschiedenen Gründen nur sehr schwer beurteilt werden. Besonders bei langen Bestrahlungszeiten bildet sich an der Oberfläche eine Schicht aus nicht vaporisiertem und nicht mehr verdampfungsfähigem Material, das bei weiterer Strahleneinwirkung zu glühen beginnt. Durch Messungen mit einer Thermokamera (31) konnten Temperaturen von 300° verifiziert werden. Zu einer schnellen und kontrollierbaren Beseitigung des Tumors kam es dabei jedoch nicht. Lediglich Tumoren bis zu einer Höhe von ca. 5 mm ließen sich gut abtragen. Im Vergleich zum Neodym-YAG-Laser zeigt sich ein verzögerter Temperaturanstieg.

Zur weiteren Verdeutlichung der makroskopischen Vorgänge während und nach der CO_2-Laserbestrahlung werden nachfolgend drei Abbildungen vorgestellt (Abb. 20 - 22).
Auf Abb. 20 ist ein Brown-Pearce-Carcinom (5,19) der Kaninchenharnblase abgebildet. Jeder der drei Tumoren auf der aufgespannten Harnblase ist größer als 8 mm und schon deshalb nach den bisherigen Erkenntnissen für eine CO_2-Laserbestrahlung relativ ungeeignet. Die drei auf dem Bild erkennbaren Tumoren waren kaum durchblutet und bestanden aus verhornendem nekrotischem Material.

Abb. 20: Drei transplantierte Tumoren (8-15 mm Durchmesser) der Kaninchenharnblase vor Bestrahlung

Auf der folgenden Abb. 21 sind zwei mit dem CO_2-Laser bestrahlte Tumorreste links und rechts neben den Klemmen sichtbar. Nur der in der Mitte der aufgespannten Harnblase sichtbare Tumor ist noch unversehrt. Bei dem Versuch den Tumor am linken Oberrand radikal zu zerstören, kam es ebenso zur Perforation wie zur Zerstörung des Tumors auf der rechten Seite.

Abb. 21: Die auf Abb. 20 dargestellten Tumoren nach Bestrahlung mit dem CO_2-Laser

Während CO_2-Laserbestrahlung entsteht heftige Rauchentwicklung. An der Gewebeoberfläche werden hohe Temperaturen über 200° C gemessen. Wenn das zu bestrahlende Gewebe aus trockenem Material besteht, kommt es zum Aufglühen und zur Entwicklung von weißen kugelförmigen Verbrennungsrückständen (siehe Abb. 22, 12-fache Vergrößerung).

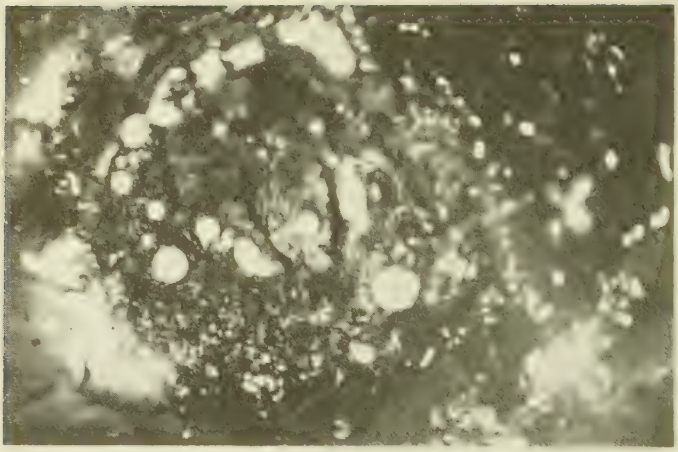

Abb. 22: glühendes Material während CO_2-Laserbestrahlung bei lang(10-15 sec.) dauernder Einwirkung

Diese Vorgänge erschweren während und nach CO_2-Laserbestrahlung die Beobachtung und machen eine genaue Beurteilung der Tiefenwirkung fast unmöglich. Zur Demonstration nahezu idealer Voraussetzungen für die Bestrahlung mit dem CO_2-Laser werden die folgenden beiden Abbildungen 23 und 24 herangezogen. Der auf dem Bild sichtbare Tumor im Zentrum ist ungefähr 4 mm hoch und 6 mm breit und besitzt damit für die Bestrahlung mit dem CO_2-Laser nahezu die ideale Größe. Die Oberflächenbeschaffenheit weist keinen großen Unterschied zum normalen

Urothelgewebe auf. Im Gegensatz zu den vorher gezeigten Tumoren, ebenfalls Brown-Pearce-Carcinome, jedoch in einem späteren Stadium, befindet sich hier noch genügend verdampfungsfähiges Material (Flüssigkeit) innerhalb des Tumors, um einen guten abtragenden Effekt zu erreichen. Die CO_2-Laserbestrahlung erfolgte mit 30 Watt 2 Sekunden bei dreimaliger Wiederholung. Da sich nach der jeweiligen Bestrahlung kaum Rückstände bildeten, kam es bei Wiederholung des Vorganges zu einer gleichmäßigen Abtragung mit nur wenig Karbonisation an der Oberfläche. Nachdem ein Niveau unterhalb des umgebenen Schleimhautniveaus erreicht war, wurde abgebrochen.
Eine nach 4 Wochen Überlebenszeit angefertigte histologische Untersuchung ergab weder in diesem einen noch in acht weiteren Fällen Rezidive. Zusammenfassend sei noch einmal erwähnt, dass die Zusammensetzung des Tumors, Oberflächenbeschaffenheit und Größe des Tumors, unterschiedliche Bestrahlungszeiten und Intensitäten erfordert.

Abb. 23: Harnblasentumor (6 mm breit, 4 mm hoch) des Kaninchen-transplantationsmodells CO_2-Laserbestrahlung

Abb. 24: gleicher Tumor wie in der vorhergehenden Abb. 23 nach CO_2-Laserbestrahlung (30 W. 2 sec., 3 Pulse)

3. Zerstörung der Tumoren mit Neodym-YAG-Laser

a) Harnblasentumor der Ratte nach Neodym-YAG-Laserbestrahlung

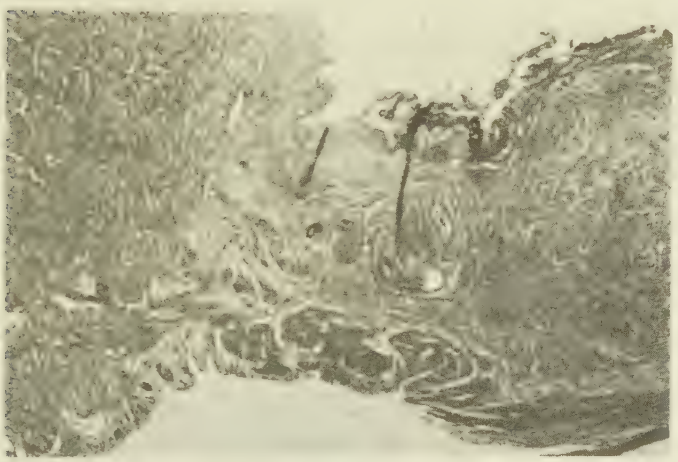

Abb. 25: Zustand nach Neodym-YAG-Laserbestrahlung eines 3-4 mm dicken Tumors der Rattenharnblase; (28 W, 4 sec, 4 mm Brennfleck, HE-Färbung

Das in Abb. 25 erkennbare Harnblasentumorgewebe wurde drei Tage nach Bestrahlung entnommen. Bis zu diesem Zeitpunkt hatten die Ratten komplikationslos überlebt. Im Vergleich zu der entsprechenden Abbildung (19) nach CO_2-Laserbestrahlung bietet sich hier ein völlig anderes Bild.

Bei seitlich erhaltenem Tumorgewebe ist eine transmural bis in die noch erkennbare muskularis der Aussenzone reichende Nekrose erkennbar. Innerhalb des Bestrahlungsgebietes ist der wanddurchsetzende Tumor völlig zerstört. Oberflächlich finden sich Kohlepartikel, die meist bei längeren Bestrahlungszeiten (hier 4 sec) entstehen.

b) Beurteilung der Tumoroberfläche während der Neodym-YAG-Laserbestrahlung

Auch bei Neodym-YAG-Laserbestrahlung zeigte sich, ebenso wie bei Bestrahlung mit dem CO_2-Laser, dass die Tumoren eine Größe von 6-8 mm nicht überschreiten sollen, um eine kontrollierbare und effiziente Bestrahlung durchführen zu können. Bestrahlungszeiten von 4-5 Sekunden bewirken eine Zerstörung des Gewebes bis in tiefere Schichten von 3-4 mm, ohne dass es dabei zur totalen Verbrennung und Verkohlung der Oberfläche kommt.
Durch eine mit Blut überzogene Oberfläche werden jedoch die Absorption und damit die Wirksamkeit der Neodym-YAG-Strahlen beeinträchtigt. Bei wiederholten Bestrahlungsversuchen, mit und ohne Blutauflage, wurden unterschiedliche Zustandsänderungen des Gewebes und der Gewebsoberläche beobachtet. Einige Tumoren wurden mit einer 1-2 mm tiefen Blutschicht bedeckt und sofort danach bestrahlt. Die gleichzeitige Temperaturmessung an der Rückseite des Tumors ergab niedrigere Temperaturen als bei Bestrahlung ohne Blutauflage unter sonst gleichen Bedinungen. Berichte verschiedener Autoren bestätigen diese Beobachtung (50). In den nachfolgenden Abbildungen (26, 27) sollen diese Vorgänge verdeutlicht werden.
Obwohl die Rattenharnblasentumoren der Abb. 26 nicht größer als 3-4 mm sind, ist keine sichere Aussage über Erfolg oder Mißerfolg der Neodym-YAG-Laserbestrahlung mit 24 Watt, 2 sec., bei 8maliger Wiederholung möglich, da eine Blutauflage die Absorption erheblich beeinträchtigte.

Schon nach ein bis zwei, jeweils 2 Sekunden lang andauernden Bestrahlungspulsen, kam es zu einer völligen Karbonisation der Oberfläche. Dies führte zu äusserst schlechten Sichtverhältnissen. Vorgänge im darunterliegenden Harnblasenwandgewebe konnten praktisch nicht mehr beurteilt werden. Auch muß an einer regelrechten Weiterleitung der Temperaturen in tiefere Schichten und einer ausreichenden Tiefenwirkung unter diesen Bedingungen gezweifelt werden, wie spätere Temperaturmessungen zeigten.

Abb. 26: Tumoren der Rattenharnblase mit starker Blutauflage. Im Zentrum zwei Tumoren von 3-4 mm Größe.

Abb. 27: Nach Bestrahlung mit dem Neodym-YAG-Laser 24 W, 2 sec, 8mal.
äusserst starke, oberflächliche Karbonisation

4. Graphische Darstellung der Temperatur-Zeit-Beziehung

An den folgenden zwei Abbildungen (Abb. 28 CO_2-Laserbestrahlung 20 W, 6 mm Brennfleck, 1 sec Pulsdauer, Tumordicke 2 mm; Abb. 29 Neodym-YAG-Laserbestrahlung gleiche Parameter) lassen sich die unterschiedlichen Qualitäten der beiden Lasergeräte erkennen.

In Abb. 28 fällt das abgeflachte Temperaturmaximum auf. Dieser Effekt war vorherzusehen und ist auf die indirekte Wirkung des CO_2-Lasers zurückzuführen. Die Strahlen heizen

die Oberfläche auf, wobei die Hitze wie in einer Welle am Temperaturmeßfühler ankommt (40).

Mit dem Näherrücken der ursprünglich an der Oberfläche gelegenen Hitzefront werden die Temperaturspikes steiler und höher. Die Geschwindigkeit des Aufheiz- und Abkühlvorganges nimmt zu.

Tumoren, die eine Größe von 6-8 mm überschreiten, erfordern eine übermäßig lange Bestrahlungszeit bis eine ausreichende Temperatur zur Zerstörung auch in tieferen Gewebsschichten erreicht ist. Tumoren dieser Größe wurden deshalb vor der Bestrahlung mit dem Skalpell reduziert.

Die in Abb. 29 dargestellte Kurve nach Neodym-YAG-Laserbestrahlung weist von Anfang bis Ende fast gleichförmige Spikes nach jedem Laserpuls auf. Ein Spike zeigt jeweils die Summe aus der Temperatursteigerung des Gewebes und der Eigenabsorption der Sonde. Der steile, plötzliche Anstieg sofort nach dem Laserpuls drückt das direkte Eindringen der Strahlen bis zur Meßsonde aus. Sofort nach Beginn der Bestrahlungspause fällt die Temperatur auf ein Niveau ab, das der aktuellen Gewebstemperatur entspricht.
Der dann folgende langsame Temperaturabfall, proportional zu den Bestrahlungsintervallen, ist Zeichen der Abkühlung des Gewebes. Beide Kurven zeigen einen linearen Anstieg bis zum Erreichen der Temperatur von ca. 60° C.
Diese Temperaturschwelle wurde als CCT (critical control temperature) bezeichnet. Nach Meinung verschiedener Autoren (34) und nach eigenen Erfahrungen kommt es bei dieser Tempe-

ratur zur Koagulation von Eiweiß und bei längerer Einwirkung damit zum Zelltod.

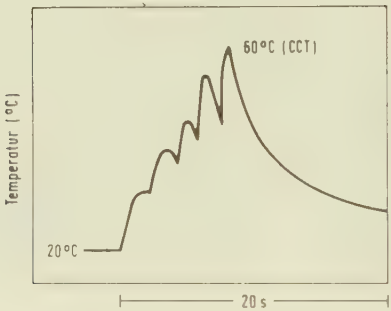

Abb. 28: CO_2-Temperaturmesskurve; nach 5 Bestrahlungspulsen (20 Watt; 6 mm Brennfleck, 1 sec. Pulsdauer) ist an der Rückwand des Rattenharnblasentumors eine Temperatur von ca. 60° erreicht; deutlich sichtbar der Temperaturanstieg und kurzzeitiger Temperaturabfall nach dem jeweiligen CO_2-Laser-Bestrahlungspuls.
CCT = critical control temperäture
20°C= Temperaturausgangsniveau von 20° C
Bis zum völligen Temperaturausgleich auf die Ausgangstemperatur von 20° C vergingen 20 sec.

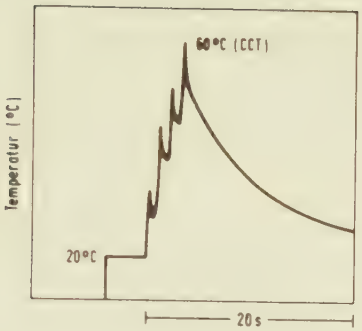

Abb. 29: Temperaturmesskurve nach Neodym-YAG-Laserbestrahlung
Das CCT-Niveau wird nach 4 Bestrahlungspulsen (20 W, 6 mm Brennfleck, 1 sec. Pulsdauer) erreicht.

5. Beziehung Pulszahl - Tumorgröße

Eine Zunahme der Tumorgröße erfordert eine größere Anzahl von Bestrahlungspulsen. Tumoren mit Blutauflage mußten öfter bestrahlt werden als solche ohne eine, die Absorption der Strahlen behindernden Schicht. In der folgenden Abbilung 30 wird dieser Sachverhalt dargestellt. Auf der Ordinate sind die Anzahl der Bestrahlungspulse abgetragen, die jeweils benötigt wurden, um einen Tumor auf 60^{o} C aufzuheizen und somit zu zerstören. Auf der Abszisse (oben) wurde in halblogarythmischem Maßstab der Durch-

messer und auf der Abszisse (unten) die Tumoroberfläche in mm^2 dargestellt. Wegen der schon erwähnten Absorptionsunterschiede mit und ohne Blutauflage wurden die ersteren als ausgefüllte Punkt dargestellt.

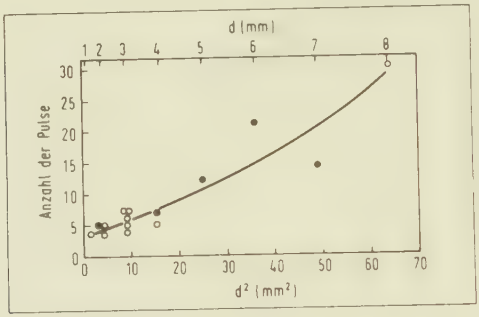

Abb. 30: Beziehung zwischen Pulszahl-Tumorgröße und Zustand der Oberfläche

Die durchschnittliche Temperatursteigerung betrug bei einem 3 mm dicken Tumor nach Bestrahlung mit dem Neodym-YAG-Laser 2,6° C/sec. Ein 7 mm dicker Tumor wird in derselben Zeit nur 1,6° C/sec. aufgeheizt.

Nach Auswertung der Ergebnisse können folgende wichtige Feststellungen bezüglich der Tumorzerstörung mit dem Neodym-YAG-Laser getroffen werden. Sowohl bei kleinen Tumoren als auch bei 6 mm dicken Tumoren wurde nach entsprechend langer Bestrahlung eine zur Zerstörung des Gewebes ausreichende Temperatur erreicht.

Die Ausgangstemperatur bei diesen Messungen war 20° C, entsprechend der Raumtemperatur. Während transurethraler Bestrahlung in der geschlossenen Harnblase, bei fehlendem Kühleffekt der Raumluft und höherer Ausgangstemperatur sind weniger Pulse erforderlich.

Abb. 31 zeigt, dass sogar bei einer Tumorgröße von 6-8 mm eine Temperatur von über 60° C erreicht werden kann, wenn entsprechend lange Zeit (oft) bestrahlt wird. Allerdings wird bei einer großen Anzahl von Laserpulsen die Gewebeoberfläche derart verändert, dass eine Kontrolle der Laserwirkung mit bloßem Auge nur sehr schwer möglich ist.

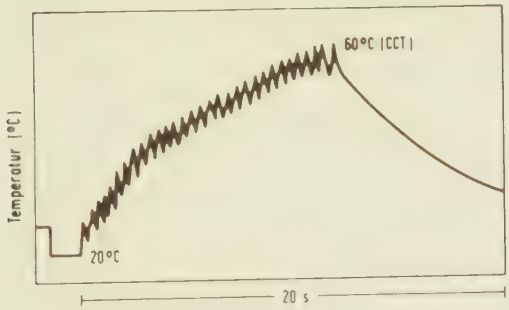

Abb. 31: Charakteristische Temperaturmeßkurve (Neodym-YAG-Laserbestrahlung) bei Tumorgröße von 8 mm

6. Integration der Meßdaten in ein Rechenmodell - Kalkulation der Gewebeschädigung

Im folgenden wurde versucht, mit einer Rechenformel (Abb. 32) den zu erwartenden Gewebeschaden zu kalkulieren. Diese Überlegung geht auf ARRHENIUS (2) zurück, der die Reaktionsgeschwindigkeit bei der Inversion von Rohrzucker durch Säuren erforschte.

Auch MORITZ und HENRIQUES (55,16) arbeiteten mit diesem Rechenmodell, als sie den Einfluß der Zeit während der Temperaturwirkung auf eine Gewebefläche erforschten.

Sie fanden heraus, dass die thermische Schädigung in biologischem Gewebe schrittweise vorangeht. Während der Zeit der Temperaturerhöhung ist der Schädigungsgrad abzuschätzen. Wenn die augenblickliche Reaktionsgeschwindigkeit $\frac{d}{dt}$ vom Bestrahlungsbeginn T_F bis zum Ende T_S integriert wird, kann die Schädigung zum Zeitpunkt x annähernd berechnet werden.

Ausmaß der Schädigung = Dosis · Zeit

$$\Omega(\tau) = \int_{\tau_S}^{\tau_F} \left\{ \frac{d\Omega}{dt} \right\} d\tau = \int_{\tau_S}^{\tau_F} \left\{ P \exp\left(- \frac{\Delta E}{R\, T_K(\tau)} \right) \right\} d\tau$$

Abb. 32: P; E = gewebsspezifische Konstanten
R = Boltzmanns Gas-Konstante
T_K = absolute (Kelvin) Temperatur als Funktion der Zeit
$\sim$ = Ausmaß der Schädigung

Angenommen, der Tumor wird "Schritt für Schritt" in einem Zeitraum dt zerstört, so kann zu verschiedenen Zeipunkten (Abb. 33 x - Achse) eine entsprechende Temperaturerhöhung (Abb. 33 y - Achse) abgelesen werden.
Durch Einsetzen der erhaltenen Werte in die Formel (Abb. 32) errechnet man die Schädigungskurve (52) bzw. das Ausmaß der Schädigung. In Abb. 33 ist die Temperatur T auf der linken und der aktuelle Gewebeschaden auf der rechten Ordinate gegen die Zeit auf der Abszisse abgetragen.

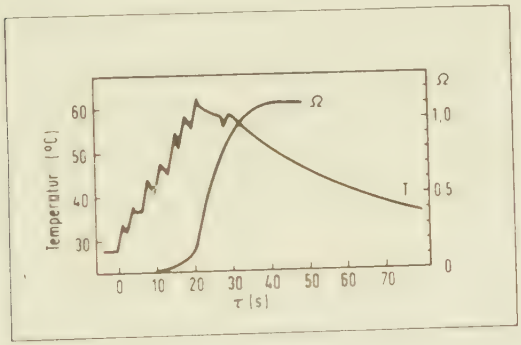

Abb. 33: ~ = errechnete Schädigungskurve
I = Temperaturmeßkurve bei Bestrahlung von Harnblasentumorgewebe mit dem Neodym-YAG-Laser.
Nach ca. 35 sec. wurde eine sogenannte letale Dosis = 1,0 erreicht.

Nach MIXTER (34) entspricht das Schädigungsausmaß Ω = 1,0 der mittleren letalen Dosis bei der Bestrahlung einer He-La-Zellkultur (34). Mangels spezifischer Konstanten für das Harnblasengewebe der Ratte wurden ersatzweise die für die He-La-Zellkultur gültigen Gewebskonstanten P und E in die Formel (Abb. 33) eingesetzt.

Bemerkenswert für die Temperaturkurve T ist die Tatsache, dass nach Aufhören der Bestrahlung die Schädigung nicht endet, sondern während des langsamen Abkühlens der bestrahlten Tumormasse weiter anhält. Dies ist aus der zeitlichen Versetzung der beiden Kurven T und Ω und dem Plateau der Kurve ersichtlich.

Die übrigen Temperaturmeßkurven nach n=18 Tumorbestrahlungsversuchen wurden daraufhin geprüft, ob der geforderte Wert Ω = 1 (mittlere letale Dosis) erreicht worden war.

Dazu werden aus der jeweiligen Temperaturmeßkurve die gemessenen Temperaturwerte entnommen und dann in die Gleichung (Abb. 32) eingesetzt.

In allen n=18 Fällen nach Neodym-YAG-Bestrahlung wurde die mittlere letale Dosis erreicht.

Diskussion

1. Thermische Effekte an biologischem Gewebe

a) CO_2-Laser-Verdampfung - Abtragung

Die typische CO_2-Laserwirkung (Abtragung erklärt sich aus der vollkommenen Absorption an der Gewebeoberfläche. Die Intensität der relativ langwelligen Strahlen von 10 µ Länge verhält sich nach dem Gesetz von BEER (7), nämlich $I = I_o \times e^{-z}$.

Damit läßt sich die Strahlenenergie auf jedem beliebigen Niveau unter der Gewebeoberfläche ausrechnen.

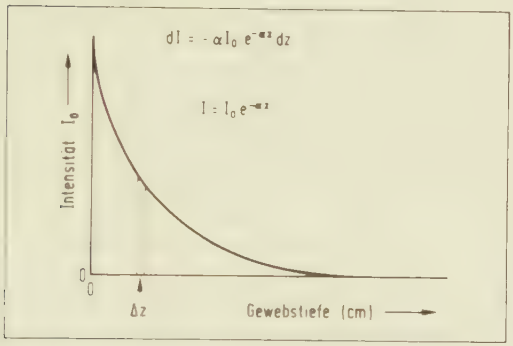

Abb. 34: Exponentionelle Abnahme der Strahlungsintensität I im Gewebe (Darstellung nach Verschueren (47)

I_0 = Intensität der auftreffenden Strahlung

I = Intensität, z (cm) unter der Oberfläche

α = Absorptionskoeffizient des CO_2-Laserstrahles in lebendem Gewebe.

z = Gewebstiefe in cm

Die Energieverteilung der Strahlung an der Oberfläche läßt sich ausdrücken mit $I_o = \frac{P}{q}$ (W/cm^2), wobei p die Stärke der auf die Oberfläche auftreffenden Strahlung und q die Größe des Brennflecks darstellt.

Die Abschwächung des eindringenden Laserlichtes ist durch die Formel $dI = -I_o e^{-z}\, dz$ auszudrücken. Durch Einsetzen von q und dE (= absorbierte Energie in einer Zeiteinheit dt) in die Gleichung kann die zur Verdampfung einer Gewebsschicht benötigte Zeit errechnet werden (47).

Der praktische Nutzen dieser theoretischen Überlegung wird jedoch durch einige Beobachtungen, die während der Versuche mit dem CO_2-Laser gemacht wurden, in Frage gestellt.

Fehlende Abtragung bei Bestrahlung mit niedriger Energiedichte, verschiedene Gewebskoeffizienten, der Zustand der Oberfläche, die Spannung des Gewebes (47) und dessen Wärmeableitung (48) sowie Änderung der Absorptionseigenschaften während der Bestrahlung schließen ein streng kalkulierbares Risiko aus. Aus diesem Grund sind die Gewebsverdampfung und damit das Perforationsrisiko schwer abschätzbar.

Die Wahl der Bestrahlungsparameter (Bestrahlungsdauer, Brennfleck, Größe und Leistung) muss den jeweiligen Gegebenheiten wie z.B. Oberflächenbeschaffenheit, Wärmeleitfähigkeit, Größe des zu bestrahlenden Bezirkes angepasst werden.

In Abb. 35 wird die unterschiedliche Temperaturempfindlichkeit der verschiedenen Bestrahlungsobjekte ersichtlich.

Dies erklärt wie wichtig die Berücksichtigung verschiedener Gewebskoeffizienten bei der Abschätzung der zu erwartenden Schädigung ist.

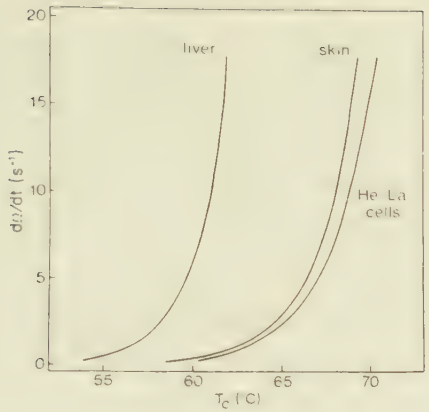

Abb. 35: Temperaturresistenzkurven von Leber-, Haut- und He-La-Zellen (nach Mixter 34)

Als Grundlage zur Festsetzung der Temperaturschwelle von 60°C dienten Hinweise aus der Literatur (21), wonach es bei dieser Temperatur zur Koagulation der Proteine in den Zellen und zur Deformation der Zellorganellen kommt.
In Abb. 35 ist die relativ große Temperaturresistenz der Hela-Zellen (aus einem Tumor abgeleitete Zellkultur), erkennbar. Die Hela-Zellen sind als wesentlich widerstandsfähiger einzustufen als das relativ empfindliche Gewebe der Harnblasenschleimhaut (28,34).

Bei einer Temperatur von 60° C beträgt hier dt (=Schädigung als Funktion der Zeit) 0,5/sec. Besonders die Untersuchungen von HENRIQUES (16), LINKE (28) und MIXTER waren bei der Operation mit oben beschriebenem Rechenmodell wegweisend und ermöglichten eine Übertragung dieses analytischen Verfahrens auf die eigenen Versuche.

b) Neodym-YAG-Laser: Wärmeleitung - Koagulationswirkung

Da Neodym-YAG-Licht gut über Lichtleiter geleitet werden kann (38), wurde dieses Lasergerät im Hinblick auf Anwendungsmöglichkeiten bei transurethralen Eingriffen erprobt (45).

Neodym-Laserlicht hat die Eigenschaft wegen seiner nicht so starken Absorption an der Oberfläche tief in das Gewebe einzudringen.

Nach einem etwa 2 sec. dauernden Laserpuls mit mittlerer Energie, z.B. 20 W, entsteht lediglich eine Koagulation und Schrumpfung an der Oberfläche. Erst nach einigen weiteren Pulsen auf die gleiche Stelle, tritt eine leichte Karbonisation auf. Nach wiederholter Bestrahlung derselben Stelle und Bestrahlung mit höherer Energie tritt auch ein abtragender Effekt ein.

Bei Bestrahlung mit dem Neodym-YAG-Laser besteht jedoch ein entscheidender Vorteil. Im Gegensatz zur CO_2- und Argon-Laserbestrahlung bleibt das bestrahlte und koagulierte Gewebe stehen und kann weiterhin seine Stütz- und Abdichtfunktion im Hohlorgan erfüllen (45).

Wenn es nicht direkt bei der Bestrahlung zur Perforation kam, beobachteten wir in keinem Falle eine Spätperforation mit Austritt von Urin in die Bauchhöhle.

Wegen der geringeren oberflächlichen Absorption im Vergleich zum CO_2-Laser wird ein größerer Gewebebereich erwärmt und damit die pro Volumeneinheit aufgenommene spezifische Energiezufuhr geringer. Bis zum Verkochen des bestrahlten Gewebes dauert es länger als bei Bestrahlung mit dem CO_2-Laser.

Der Wärmeabstrom in die Umgebung und damit Grad und Ausdehnung der Randzonenschädigung wird größer als bei dem kurzwelligen CO_2-Licht. Deshalb ist auch die Koagulationswirkung von Neodym-YAG-Laserstrahlen intensiver ausgeprägt als z.B. beim CO_2-Laser.

Nach Berichten verschiedener Autoren (11, 43) und nach eigenen Beobachtungen ist mit dem Neodym-YAG-Laser eine ausreichende Blutstillung bei Blutgefäßen, die 3 mm nicht überschreiten, gut möglich.

Bei scharfer Fokussierung und sehr hoher Energie (150 W) sind mit dem Neodym-YAG-Laser auch Schnitte an parenchymatösen Organen möglich (48).

Dies trifft jedoch in erster Linie nur unter experimentellen Bedingungen zu, da die erwähnte hohe Laserausgangsleistung bei den in der Klinik verwendeten Neodym-YAG-Lasergeräten nicht zur Verfügung steht.

Das Hauptanwendungsgebiet des Neodym-YAG-Laser wird jedoch mit Sicherheit bei der Koagulation von Gewebebezirken liegen. Sowohl die Koagulation von blutenden Magen- und Ösophagusulcera (25) als auch die Anwendung in der Harnblase (Zerstörung

von Harnblasentumoren) brachte bisher gute Ergebnisse (45).

2. Wundheilung nach CO_2- und Neodym-YAG-Laserbestrahlung

Die Beobachtungen einiger Autoren (13,6,32,24,18) über den Wundheilungsverlauf, stimmen mit eigenen Untersuchungen überein. Lediglich die Meinung von WILSCHER (51) (günstige Beeinflussung der Wundheilung nach Applikation hoher Energie, dadurch schmaler Nekrosesaum) kann nicht bestätigt werden. Nach Meinung dieses Autors soll der bei hoher Leistung schmälere Nekrosesaum eine intensive Entzündungsreaktion zulassen und durch beschleunigte Einwanderung von Zellen einen schnelleren Heilungsverlauf ermöglichen.

Laserwunden heilen, bedingt durch den nekrotischen Randsaum, ebenso wie Elektrocauterläsionen um einige Tage langsamer als Skalpellwunden (32).

Nach CO_2-Laserbestrahlung kommt es zu einer um ca. 1 Woche rascheren vollständigen Reepithelialisierung als beim Neodym-YAG-Laser. Die nach Neodym-YAG-Laserbestrahlung verursachte Nekrose muß zerst abgeräumt und reorganisiert werden, bevor eine Reepithelialisierung einsetzt. Die Heilungsdauer betrug beim Kaninchen ca. 4 Wochen.

3. Tiefenwirkung - Perforationsrisiko

Jede Manipulation mit chirurgischen Instrumenten in Hohlorganen ist mit der Gefahr der Perforation verbunden. Besonders gefährlich ist dies, wenn der Darm der Harnblase direkt anliegt und im Falle der Perforation unmittelbar betroffen ist.

Bei der Zerstörung von Tumoren, die tief in die Wand infiltriert sind, bietet sich die Möglichkeit der Abtragung bis zum gesunden Gewebe mit herkömmlichen Instrumenten und einer anschließenden Zerstörung des Tumorrestgewebes durch Laserkoagulation mit dem Neodym-YAG-Laser an. Hierbei bleibt das bis in die tiefen Gewebsschichten nekrotisierte Gewebe stehen und erfüllt weiterhin eine Gerüstfunktion für den Zusammenhalt des Gewebes.

Die Ergebnisse der Versuche mit Kaninchen- und Rattenharnblasen zeigten, dass das zuletzt beschriebene Verfahren, jedenfalls in Hohlorganen mit dünner Wand, der radikalen Abtragung vorzuziehen ist.

Während der sogenannten schichtweisen Abtragung mit dem CO_2-Laser ist es meist wegen der sehr starken Deformierung des Gewebes (23) nicht möglich, genau zu sagen, in welcher Schicht man sich gerade befindet.

Von STAEHLER (45) wird eine kombinierte Methode vorgeschlagen, wobei zuerst mit mechanischen oder elektrischen Instrumenten der Tumor abgetragen wird, um dann das Wundbett mit dem Laser zu bestrahlen. Dabei kann es zu einer sicheren Zerstörung von übrig gebliebenen Tumorresten in der Tiefe kommen und zugleich eine Perforation vermieden werden.

4. Wirkung auf Blut- und Lymphgefäße

Auf vielen Anwendungsgebieten des Neodym-YAG-Lasers erwies sich die Wirkung auf Blut- und Lymphgefäße als sehr nützlich. Übereinstimmend mit den eigenen Beobachtungen berichten verschiedene Autoren (32, 11, 3) von der hervorragend blut-

stillenden Wirkung des Neodym-YAG-Laser.
Beim CO_2-Laser konnte eine ähnliche günstige blutstillende Wirkung auch bei Variation der Parameter (Leistung, Zeit, Brennfleck) nicht beobachtet werden. Gefäßdurchmesser von über 1 mm lassen keine sichere Blutstillung zu.

Im Hinblick auf die Tumorzerstörung und die dabei zu befürchtende Verschleppung von malignen Zellen über Lymphbahnen wird in der Literatur von einer bedeutsamen Beobachtung berichtet.(42)

Bei eigenen Experimenten mit dem in die Kaninchenharnblase implantierten Brown-Pearce-Karzinom wurde 6 Wochen nach Neodym-YAG-Laserbestrahlung nur in einem von 10 Fällen eine Metastasierung beobachtet.

5. Fehlerquellen der Temperaturmeßmethode

Die Veränderungen der Rattenharnblasenwand waren makroskopisch an der Auftreffstelle des Strahles gut beurteilbar. Von besonderem Interesse waren jedoch die Temperaturerhöhung und die Vorgänge auf der Rückseite.
Zur Klärung dieses Sachverhaltes wurde die unter Material und Methode beschriebene Meßanordnung gewählt, wobei die Genauigkeit für die Zwecke der groben Temperaturmessung ausreichte.

a) Die Plazierung der Sonde mußte genau im Zentrum des auftreffenden Laserstrahles erfolgen, damit nicht Streustrahlung oder fortgeleitete Temperatur gemessen wird.
Da die Meßsonde manuell an der Rückseite plaziert werden mußte, wobei der Strahl auf die Vorderseite auftraf, war mit einer gewissen jedoch nicht wesentlichen Ungenauigkeit zu rechnen.

Eine Temperatursteigerung auf 60° C (an der Rückseite der Harnblase von der Meßsonde registriert) wurde bei n=18 Neodym-YAG-Bestrahlungsversuchen erreicht. Im Bestrahlungszentrum kann eine noch höhere Temperatur angenommen werden, wie aus gleichzeitig durchgeführten Messungen mit einer Thermokamera bewiesen werden konnte.

b) Weitere Ungenauigkeiten ergaben sich aus der sogenannten Selbstabsorption der Sonde (siehe Seite 16), Verzögerungen des Registriergerätes, unterschiedlicher Raumtemperatur und der groben Volumenmessung der Tumoren mit Hilfe einer Schublere.

6. Vergleich verschiedener Tumormodelle

Vor den Versuchen mit dem chemisch induzierten Tumor der Rattenharnblase wurde das in die Kaninchenharnblase implantierte Brown-Pearce-Karzinom (19, 14, 5) zu den Tumorbestrahlungsversuchen verwendet (Abb. 20).
Dieses Modell hatte einige Vorteile:

- schnelle Verfügbarkeit (acht Tage nach Implantation konnte bestrahlt werden) sowohl prä- als auch postoperativ konnte mit einem Zystoskop (11 Charr.) der Verlauf von Tumorwachstum bzw. Rezidive beobachtet werden. Jedoch ist dieser Tumor kein genuines Karzinom und in seiner Struktur den Harnblasenneoplasmen des Menschen kaum ähnlich.

Im Frühstadium, acht Tage nach Implantation der Tumorzellen in die Blasenwand, zeigen sich Formationen wie in Abb. 23.

In diesem Stadium war eine gute und kontrollierbare Abtragung mit dem CO_2-Laser oder Koagulation mit dem Neodym-YAG-Laser möglich. Die meisten Tumoren hatten jedoch schon nach 10-12 Tagen die ganze Wand durchsetzt, waren bis zu 1 cm im Durchmesser dick und innen völlig nekrotisch.
Zur Testung der Effektivität verschiedener Laserstrahlen war aber ein Tumor notwendig, der den beim Menschen vorkommenden Verhältnissen möglichst gerecht wird (26). Die chemisch induzierten Tumoren sind Papillomen und Übergangskarzinomen des Menschen sehr ähnlich. Deshalb wurde trotz der Nachteile des Rattenharnblasentumors (lange Induktionszeit, keine Möglichkeit zur endoskopischen Beobachtung) dieses Tumormodell bevorzugt.
Andere Tumoren wie z.B. das S 91 Cloudman Melanom (41), welche sich für Tierversuche recht gut eignen würden, sind nicht harnblasenspezifisch und können nicht verwendet werden.

7. Vergleich Neodym-YAG-CO_2-Laser im Hinblick auf die klinische Anwendung

In der klinischen Anwendung konnten mit dem Neodym-YAG-Laser bei der Zerstörung von Blasentumoren bisher gute Ergebnisse erzielt werden (43, 45). Der CO_2-Laser wurde bis jetzt nicht an der menschlichen Harnblase eingesetzt. Der Grund hierfür dürfte nicht nur in dem bisher fehlenden Lichtleiter zu suchen sein, sondern in den vielen anderen Nachteilen, die dieses Gerät im Vergleich zum Neodym-YAG-Laser aufweist.
Für den Einsatz des Neodym-YAG-Lasers sprechen:

- die bessere Penetration dieser Laserstrahlen ermöglicht die sichere Zerstörung tiefer gelegener Tumorbezirke.
- keine Abtragung bei niedriger Energie; dadurch Herabsetzung des Perforationsrisikos.
- keine Blutungen - gefäßkoagulierende Wirkung
- keine totale Destruktion der Oberfläche - dadurch übersichtliches Operationsfeld.

Der zur Tumorabtragung an parenchymatösen Organen an sich gut geeignete CO_2-Laser (47) birgt bei der Anwendung in einem Hohlorgan gewisse Gefahren in sich. Besonders in den Leistungsbereichen, die für eine radikale, sichere Abtragung erforderlich sind, erscheint die theoretisch mögliche endoskopische Anwendung des CO_2-Lasers sehr riskant, da das Perforationsrisiko hoch ist. Der scharf fokussierte CO_2-Laserstrahl eignet sich zum Schneiden von parenchymatösen Gewebe. Um eine gleichbleibende Schnitttiefe zu gewährleisten, muß der CO_2-Laserstrahl mit konstanter Geschwindigkeit und gleichbleibendem Abstand geführt werden (20). Dies ist jedoch nur bedingt möglich. So kam es bei einigen Schnittversuchen zur Perforation der dünnen Harnblasenwand mit Schädigung des unmittelbar anliegenden Darms. Zur selektiven Zerstörung eines Tumor scheint es besser zu sein, eine Koagulationsnekrose zu erzeugen. Eine "Umschneidung" eines tumorösen Bezirkes wie sie mit dem CO_2-Laser möglich wäre, hat sich jedenfalls nicht bewährt. Somit ist der Neodym-YAG-Laser zur Koagulation von intramural gelegenen Harnblasentumoren im Ver-

gleich zum CO_2-Laser das eindeutig besser geeignete Gerät.

Zusammenfassung

In einer ersten Versuchsserie wurde die Wirkung des CO_2-Lasers auf die gesunde Harnblasenschleimhaut des Kaninchens untersucht. Das systematische Vermessen von Läsionen, die durch einzeln abgegebene Schüsse auf die Harnblasenwand des Kaninchens erzeugt wurden, sollte Aufschluß über die Wirkung des CO_2-Lasers an der gesunden Harnblasenschleimhaut geben. Überlebensversuche gaben Antwort auf die Frage nach Wundheilung, Perforationsrisiko und Schädigung der Ureterostien. Anhand von Tumormodellen (transplantiertes Brown-Pearce-Karzinom beim Kaninchen und chemisch induzierter Tumor bei der Ratte) wurde die thermische Wirkung von CO_2- und Neodym-YAG-Laser auf die Anwendbarkeit bei der Zerstörung von Harnblasentumoren untersucht.

Durch Temperaturmessungen während der Bestrahlung von Rattenharnblasentumoren mit CO_2- und Neodym-YAG-Laser konnten geeignete Parameter zur Tumorbestrahlung gewonnen werden.

An der Zustandsänderung der Gewebsoberflächen, dem Temperaturanstieg und der Beurteilung der histologischen Präparate wurden Aussagen über Wirkprinzip, Gefahren und Möglichkeiten der Laserstrahlen Anwendung an der Harnblase gewonnen. Zu den einzelnen Ergebnissen siehe Zusammenfassung Seite 38. Nach den Tumorbestrahlungsversuchen (Brown-Pearce-Karzinom beim Kaninchen und chemisch induzierter Tumor der Rattenharnblase) können folgende Feststellungen getroffen werden.

1. Sowohl transplantierte als auch chemisch induzierte Tumoren können als Modell für Bestrahlungsversuche mit CO_2-und Neodym-YAG-Laser verwendet werden. Aufgrund der weitgehenden Ähnlichkeit (Malignität, Wachstumsvarianten) mit Tumoren der menschlichen Harnblase wurde im Rahmen der Bestrahlungsversuche mit Temperaturmessung den Rattenharnblasentumoren der Vorrang gegeben.

2. Durch langsames Aufheizen des Tumors mit dem Neodym-YAG-Laser in mehreren aufeinanderfolgenden Laserpulsen läßt sich ein günstiger Zerstörungseffekt unter optimaler Schonung des angrenzenden Gewebes bei gleichzeitiger Vermeidung der Perforationsgefahr erreichen.

3. Die Möglichkeit der Tumorzerstörung mit dem CO_2-Laser wird durch verschiedene technische Probleme wie das Fehlen eines geeigneten Lichtleiters und das beim CO_2-Laser als sehr hoch einzuschätzende Perforationsrisiko begrenzt. Mit dem Neodym-YAG-Laser wurde bei entsprechend langer Bestrahlungszeit eine Aufheizung des Gewebes bis in tiefere Schichten (6 mm) beobachtet. Die zur Zerstörung der Tumorzellen geforderte Temperatur von 60° C wurde bei einer Tumordicke von 6 mm erreicht

4. Die Beschaffenheit eines Tumors (Größe, Oberflächen- und Innenstruktur) beeinflusst den Bestrahlungsvorgang und limitiert besonders beim CO_2-Laser die Anwendbarkeit.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ARCOS, C., MARY, F., ARGUS, G.W.:
Chemical induction of Cancer
Structural Bases and Biological Mechanismus, Vol.1.2.
Academic Press, New York and London 1968

2. ARRHENIUS, SVANTE:
Über die Reaktionsgeschwindigkeit bei der Inversion von
Rohrzucker durch Säuren.
Z.Phys.Chem., 2, 226 (1889)

3. BOERGEN, K.P., BIRNGRUBER, R., GABEL v.P., HILLENKAMP
Experimental Studies on Controlled Closure of
small Vessels by Laser Irradiation.
Proceedings of the Symp. Lasers in Medicine and Biology.
Neuherberg 1977

4. BREITWIESER, HERBRICH, H., NÖSKE, H.D., ZIMMERMANN, H.D.,
KRAUSHAAR, J., TENNE, H.:
CO_2-Laser als Operationsinstrument in der experimentellen
Urologie.
Biomed.Techn. 18, 6 (1973)

5. BROWN, W.H., PEARCE, L.:
Exp.Med. 37, 601, 1923

6. BUCHHOLZ, J., GROTELÜSCHEN, B., WELLING, H.:
Liver Surgery with ND-Yag-Laser-Radiation
Proceedings of the Symposium. Lasers in Medicine and Biology
Neuherberg June 1977

7. DORN, F.:
Physik
Hermann Schroedel Verlag KG, Hannover

8. DRUCKREY, H., PREUSSMANN, R., IVANCOVOC, S., SCHMIDT, G.H.,
MENNEL, H.D., STAHL, K.W.:
Selektive Erzeugung von Blasenkrebs an Ratten durch
Dibutyl-N-Butyl-N-Butanol-4-nitrosamin
Krebsforschung 66, 280 (1964)

9. EICHLER, J., KNOF, J., LENZ, H.:
Measurments on the Depth of Penetration of Light (0,35-1,0 μ)
in tissue.
Radiat.Environ.Biophys. 14, 239 (1977)

10. GOLDMAN, L.:
Biomedical Aspects of the Laser
Springer Berlin, Heidelberg, New York 1967

11. GORISCH, W., BOERGEN, K.P., Mc. CORD, WEINBERG
Temperatur Measurement of Laser Irradiated
Mesenterial Blocd Vessels of the Rabbit
Proceeding of the Symposium. Lasers in Medicine and Biology
Neuherberg, June 22-25, 1977
GSF-Bericht BPT 5

12. GROTELÜSCHEN, B., Raumer, P., BÖDECKER, V., SEPOLD, G.:
Morphologische Befunde bei Schnittversuchen an der Rattenleber mittels Neodym-YAG-Laser.
Biomed.Tech. 19, 75 (1974)

13. HALL, R.R.:
The Healing of Tissues incised by a Carbon-Dioxide Laser
Br.J.Surg. 58, 222 (1971)

14. HARZMANN, D., GERICKE, ERCHMANN
Transurethral transplantiertes Modell eines Karzinoms im Bereich der Harnblase des Kaninchens.
Urologe A 17, 125 (1978)

15. HAYES, I.R. and WOLBARSHT, M.L.:
Thermal model for retinal damage induced by pulsed lasers.
Aerospace Med. 39, 474 (1968)

16. HENRIQUES, F.C.:
The predictability and the Significance of thermally induced rate processed leading to irreversible epidermal injury.
Arch.Pathol. 43, 489 (1974)

17. HENRIQUES, F.C.:
Studies of thermal injury
Arch.Pathol. 43, 489 (1974)

18. HISHIMOTO KUMIO, ROCKWELL, J. jun., EPSTEIN, R., FIDLER, P.:
Laser wound healing compared with other surgical modalities.
Burns, 1, 13 (1974)

19. HOFSTETTER, A., STAEHLER, G., KEIDITSCH, E.:
Experimentelle Erzeugung von malignen Tumoren an der Kaninchenblase.
Fortschr.Med. 95, 346 (1977)

20. HORCH, H., Mc CORD SCHÄFER, RUPRECHT:
Aspects of Laser Osteotomie
Proceedings of the Symposium
Neuherberg, 1977

21. INCROPERA, F.P., LINK, W.S., HENDERSON, M.R.:
A modell for tissue response to high intensity energy sources.
Med.Biol.Eng. Comput. 12, 199 (1974)

22. KAPLAN, J. and Ger., R.:
The Carbon-dioxide-laser in clinical surgery:
a preliminary report
3. Israel Med. Sci report 9, 79-83 (1973)

23. KEIDITSCH, E., LANGER, E., STAEHLER, G., HOFSTETTER, A., EBNER, H.:
Histologische Veränderungen an der Kaninchenharnblase nach Laserbestrahlung.
Proceedings of Symposium. Laser in Medicine and Biology
Neuherberg 1977

24. KETTLER, L.H.:
Morphologie, Pathophysiologie und Klinik der Wundheilungs- und Regenerationsvorgänge.
Zentral.Chir. 92, 1049 (1967)

25. KIEFHABER, P., NATH, G., MORITZ, K., GORISCH, W., KREITMAIR, A.:
Endoskopical Control of Massive Gastrointestinal Hemorrhage with a Power Neodymium-YAG-Laser.
Proc.Symp. Lasers in Medicine and Biology
Neuherberg, 1977

26. KUNZE, E., SCHAUER, A.:
Morphology, Classification and Histogenesis of N-Butyl-N-(4-Hydroxy-butyl)-Nitrosamine-induced Carcinomas in the Urinary Bladder of Rats
Z.Krebsforsch. 88, 273 (1977)

27. KUNZE, E., SCHAUER, A., AZANI, M.A.:
Zur Histochemie Butyl-butanol-nitrosamin induzierter Harnblasencarcinome.
Naturwissenschaften 57, 310 (1970)

28. LINKE, E., ELBADAWI, A., NETTO, V., ROBERTS, A., and RUSSO, M.:
Effects of marked hyperthermia upon the canine bladder.
J.Urol., 107, 599 (1972)

29. LINKE, C.A., LOUNSBERRY, W., and GREDSCHMIDT:
Localized heating of tissue by electric and nonelectric means.
Invest.Urol. 4, 586 (1967)

30. Mc CORD, M.R.C., STAEHLER, G., KEIDITSCH, E., EBNER, H., WEINBERG, W.:
Laser Destruction of Chemically Induced Bladder Tumor;
Laser surgery, 2 nd.
Jerusalem Academic Press, Jerusalem 1978

31. Mc CORD, M.R.C., WEINBERG, W., GORISCH, W., LEHETA, F., SCHÖNBERGER, S.:
Thermal effects in laser irradiated biological tissues.
Proc.Symp. Lasers in Medicine and Biology
Neuherberg 1977

32. MADDEN, J.E., EDLICH, R., CUSTER, J.:
Studies in the Management of the contaminated Wound
IV. Resistance to Infections of Surgical Wounds Made by Knife, Electrosurgery and Laser
Am.J.Surg. 119, 222 (1970)

33. MIHASI, S., JAKO, G.J., INCE, J., STRONG, M.S., VAUGHNC Laser-surgery in otolaryngology:
Interaction of CO_2-Laser and soft tissue
Ann.N.Y. Acad.Sci. 267, 263 (1976)

34. MIXTER, G.J., DELHERY, G.P., DERKSEN, W.L., MONAHAN, T.J.:
The influence of Time on the Death of Hela cells at Elevated Temperatures.
I.D.Hardy ed., Temperature, its Measurment and control in science and industry.
Vol 3, Part 3, Reinhold New York 1963

35. MORITZ, A.R., HENRIQUES, F.C.:
Studies of thermal injury.
II. The relative importance of time and surface temperature in the causation of cutaneous burns.
Am .J.Path. 23, 695 (1974)

36. MÜSSIGGANG, H., KATSAROS, W.:
Laser in der operativen Medizin mit Möglichkeiten der Transmission über flexible Lichtleiter.
Bruns Beitr.Klin.Chir. 218, 763 (1971)

37. MÜSSIGGANG, H., und BRÜCKNER, W.L.:
Laser, ein zusätzliches Operationsinstrument
Urol.Int. 28, 148 (1973)

38. NATH, G., KREITMAIR, KIEFHABER, P., MORITZ, K.:
Transmissionssysteme für Laser und intensive Lichtstrahlung
Proc.Symp. Lasers in Medicine and Biology, Neuherberg 1977

39. NATH, G., GORISCH, W., KIEFHABER, P.:
First Laser Endoskopy via a Fiberoptik Transmission System
Endoskopy 5 , 213 (1973)

40. NOWAK, W.B., FINE, S., KLEIN, E., HERGENROTHER, K., HANSEN, E.P.:
On the use of thermocouples for temperature measurment
during laser irradiation.
Life Sci. 3, 1475 (1964)

41. OSTERHUIS, I.W., VERSCHUREN, and OLDHOFF, J.:
Experimental surgery on the cloudman S 91 melanom with
carbon dioxyd laser.
Acta.Chir.Belg. 74, 422 (1975)

42. OSTERHUIS, I.W. et al.:
Lymphatic Migration after Laser surgery
Lancet 1, 446 (1978)

43. STAEHLER, G., HOFSTETTER, A., SCHMIEDT, E., KEIDITSCH, E.,
GORISCH, W., WEINBERG, W.:
Zerstörung von Blasentumoren durch endoskopische Laserbe-
strahlung
Dtsch.Ärztebl. 75, 681 (1978)

44. STAEHLER, G.:
Komplikationen nach Kryochirurgischen Operationen an der Prostata.
Münch.Med.Wochenschr. 116 23 (1974)

45. STAEHLER, G., HOFSTETTER, A., SCHMIEDT, E., ROTHER, W.,
KEIDITSCH, E.:
Endoskopische Laserbestrahlung von Blasentumoren des Menschen.
Fortschr.Med. 95, 3 (1977)

46. SWERDLOW, D.B. and SALVATI, E.P.:
Elektrokoagulation of cancer of the rectum
Dis.Colon Rectum 15, 228 (1972)

47. VERSCHUEREN, R.:
The CO_2-Laser in Tumor surgery
Van Gorcum, Assen, Amsterdam 1976

48. WANDHÖFER, A., BALLY, V.G., KAUFMANN, G., KARDUCK, A. and RICHTER, H.G.:
Comparative Morphological Investigation on the Rabbits Auricle after Exposure to CO_2- and Neodym-YAG-Laser Radiation.
Arch.Oto-Rhino-Laryngol. 217, 487 (1977)

49. WEINBERG, GABEL,V.P., BIRNGRUBER, R., Mc CORD, R.C.:
Zur Messung der Korrelation von Temperaturverteilung und Lichtreflexion am Augenhintergrund bei Laserkoagulation.
Proc.Symp. Lasers in Medicine and Biology, Neuherberg 1977

50. WELSCH, H., BIRNGRUBER, BOERGEN, GABEL, HILLENKAMP:
The influence of scattering on the wavelength dependent light absorption in blood.
Proceedings of the Symp. Lasers in Medicine and Biology, Neuherberg 1977

51. WILSCHER, M.K., FILOSO, A.M., GEZA, JAKO, J. and OLSON, C.A.:
J.Urol. 119, 202 (1978)
Development of a Carbon Dioxide laser cystoscope

52. WOLBARSHT, M.L.:
Laser Applications in Medicine and Biology. Vol. 2.
Plenum Press New York, London 1974

53. ZELLNER, P.R. und LAZARIDIS :
Anwendung des CO_2-Lasers bei der Behandlung des Brandverletzten.
Proceedings of the Symposium, Lasers in Medicine and Biology, Neuherberg 1977